

Aus der Augenklinik und Poliklinik der Ludwig – Maximilians – Universität München

Vorstand: Prof. Dr. A. Kampik

**„Melanoma Inhibitory Activity“ (MIA):
ein neuer serologischer Marker für das uveale Melanom**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der
Medizinischen Fakultät der Ludwig – Maximilians – Universität zu
München

vorgelegt von
Ingrid Wanke Reiniger
aus
Rio de Janeiro

2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. A. J. Mueller

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. R. Wienecke

Prof. Dr. Dr. K. S. Boos

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. U. C. Schaller

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 17.03.2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Epidemiologie und diagnostische Aspekte des Aderhautmelanoms.....	1
1.2	Therapieoptionen und ihre Bedeutung bei Metastasen	7
1.3	Prognostisch relevante Parameter bei Aderhautmelanomen.....	11
1.3.1	Klinisch erfassbare Faktoren.....	11
1.3.2	Histologisch erfassbare Faktoren	16
1.3.3	Labortechnisch erfassbare Faktoren.....	16
1.4	Metastasierung und Screening bei AH-MM	17
1.5	Tumormarker bei Melanomen (der Haut und der Uvea)	21
1.6	MIA: Melanoma inhibitory activity	22
1.7	Prophylaktische Behandlung von Hochrisikopatienten	28
1.8	Behandlung des metastasierenden Aderhautmelanoms	29
2	Fragestellung	31
3	Patienten und Methode.....	32
3.1	Patientenrekrutierung und Untersuchung.....	32
3.2	Materialgewinnung und Probenbearbeitung	32
3.3	Statistische Analyse	33
4	Ergebnisse	34

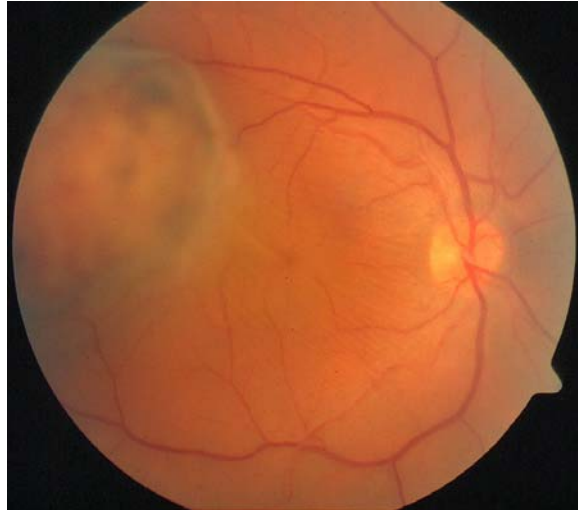
4.1	Epidemiologie / Probenzahl / Follow - up	34
4.2	MIA - Bestimmungen	37
4.2.1	MIA – Bestimmung bei Patienten ohne Metastasen	37
4.2.2	MIA – Bestimmung bei Patienten mit Metastasen	39
5	Diskussion	44
6	Zusammenfassung.....	51
7	Literaturnachweis	52
8	Abbildungsverzeichnis.....	61
9	Tabellenverzeichnis.....	62
10	Lebenslauf.....	63
11	Danksagung	64

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie und diagnostische Aspekte des Aderhautmelanoms

Das Aderhautmelanom ist das häufigste intraokuläre Malignom des Auges bei Erwachsenen. Dennoch gehört es zu den seltenen Tumoren des Menschen. Der Häufigkeitsgipfel liegt zwischen dem fünfzigsten und siebzigsten Lebensjahr, und die Inzidenz beträgt ca. 6-7 Neuerkrankungen pro 1 Mio. Einwohner in Westeuropa und den Vereinigten Staaten. Maligne uveale Melanome treten signifikant häufiger bei weißen Menschen als bei Farbigen auf. Augen mit einer blauen Iris sind ebenfalls signifikant häufiger betroffen. Die 5-Jahres-Mortalitätsrate liegt bei 16 % für kleine Melanome (< 3 mm), bei 32 % für mittlere Tumore (3-5 mm) und bei 53 % für große (> 5 mm). Fernmetastasen des intraokulären Tumors ist eine häufige Todesursache [67, 69, 70, 71].

Bei der klinischen augenärztlichen Untersuchung zeigt sich typischerweise eine pigmentierte und prominente Veränderung am Augenhintergrund. Aufgrund des hohen Melaningehalts ist die Farbe des Tumors häufig braun, obwohl er amelanotisch sein kann. Abbildung 1 zeigt zwei Fundusbilder von einem amelanotischen Melanom am rechten Auge. Auf Bild A wurde der hintere Pol scharf eingestellt, sodass das prominente Melanom unscharf erscheint. Außerdem können Netzhautfalten im makulären Bereich beobachtet werden. Auf Bild B wurde der Tumor scharf eingestellt, eine eigene Tumolvaskularisation ist deutlich zu sehen.



A.



B.

Abbildung 1: Fundusfoto eines amelanotischen Aderhautmelanoms (aus: Fotoarchiv der Augenklinik, LMU)

A. Hinterer Pol eines rechten Auges. Im Bereich des temporalen oberen Gefäßbogens befindet sich eine weißliche kuppelförmige Läsion. B. Die Läsion wird fokussiert. Die Prominenz wie auch die Vaskularisation ist nun gut erkennbar.

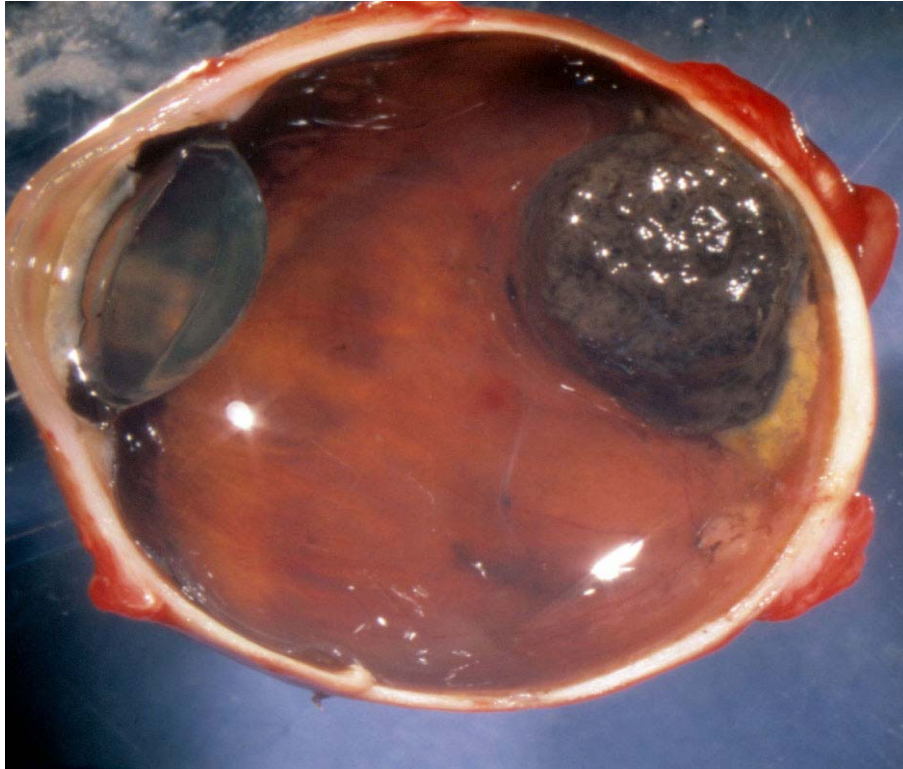
Klassische ophthalmoskopische Zeichen eines Aderhautmelanoms sind Lipofuszinablagerungen („orange pigment“) auf der Oberfläche. Wenn der Tumor wächst, kann er durch die Bruchmembran brechen und zu einer pathognomonischen kragenknopfförmigen Tumorform mit exsudativer Netzhautablösung führen. In diesen Fällen findet sich bei den Patienten eine herabgesetzte Sehschärfe und / oder ein Gesichtsfelddefekt. Bei peripherem Wachstum bleibt der Tumor allerdings bei vielen Patienten asymptomatisch und wird während einer Routine-Fundusuntersuchung entdeckt. In die Differentialdiagnose eines Aderhautmelanoms müssen folgende Erkrankungen einbezogen werden: Netzhautablösung, Aderhautamotio, Aderhautmetastasen, exsudative altersbedingte Makuladegeneration, chorioidales Hämangiom und ein großer Aderhautnävus [44, 71].

Klinisch wird das Aderhautmelanom mittels indirekter Ophthalmoskopie sowie Transillumination identifiziert. Als zusätzliche Untersuchung spielt der Ultraschall eine sehr wichtige Rolle und wird als Routinediagnostik verwendet. Mit der A- und B-Bild-Ultraschalluntersuchung können die Größenverhältnisse und die Lage intraokularer Tumore sowie quantitative Kriterien wie Reflektivität und Vaskularisation beurteilt werden. Für ein malignes Melanom typische echographische Zeichen sind eine niedrige Binnenreflektivität oder Gefäßschwirren im A-Bild, eine choroidale Exkavation, kragenknopfförmiger Aspekt sowie selten extrasklerales Wachstum des Tumors im B-Bild. Die CT ist sehr hilfreich bei der Feststellung der extraokulären Ausdehnung des Tumors, hat aber gegenüber dem Ultraschall bei der Bestimmung der Tumorgöße und bei der Differentialdiagnose keine Vorteile [44, 65].

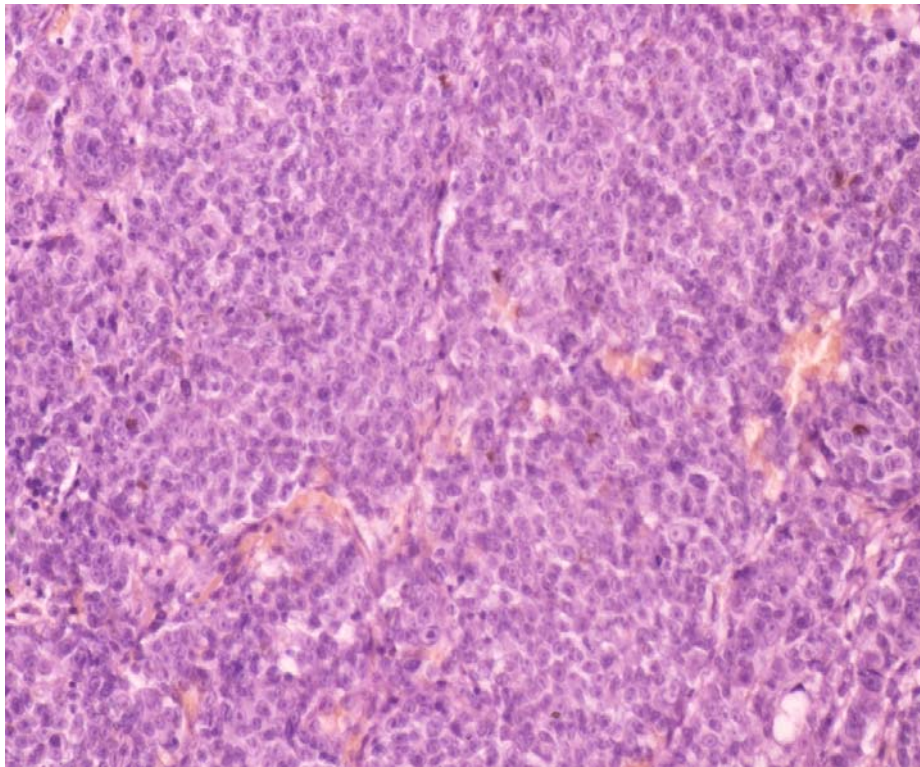
Die Fundus-Fluoreszeinangiographie bietet weitere diagnostische Möglichkeiten. Es gibt jedoch kein pathognomonisches Perfusionsmuster, obwohl die meisten Melanome während der arteriovenösen Phase des Angiogramms eine gesprenkelte Fluoreszenz zeigen, mit progressiver Anfärbung der Läsion und prolongierter Retention des Farbstoffs. Der Nachweis großer Blutgefäße innerhalb eines kleinen Tumors (doppelte Zirkulation) gilt als Zeichen einer mög-

lichen Malignität. Die Fluoreszeinangiographie hat insbesondere bei der differentialdiagnostischen Angrenzung eines Melanoms von subretinalen Blutungen, exsudativer Makulopathie und posteriorer Skleritis ihren Stellenwert. Mit der Indozyanin grün-Scanning-Laser-Angiographie (ICG) steht ein weiteres angiographisches Verfahren zur Verfügung. Die Anwendung und Vorteile dieser Methode wird in dieser Arbeit später detailliert eingegangen. Eine intraokuläre Biopsie ist nur in Ausnahmefällen erforderlich, um zelluläre Aspiraten zur Analyse zu erhalten, wenn die Diagnose nicht mit weniger invasiven Methoden gesichert werden kann [44, 71].

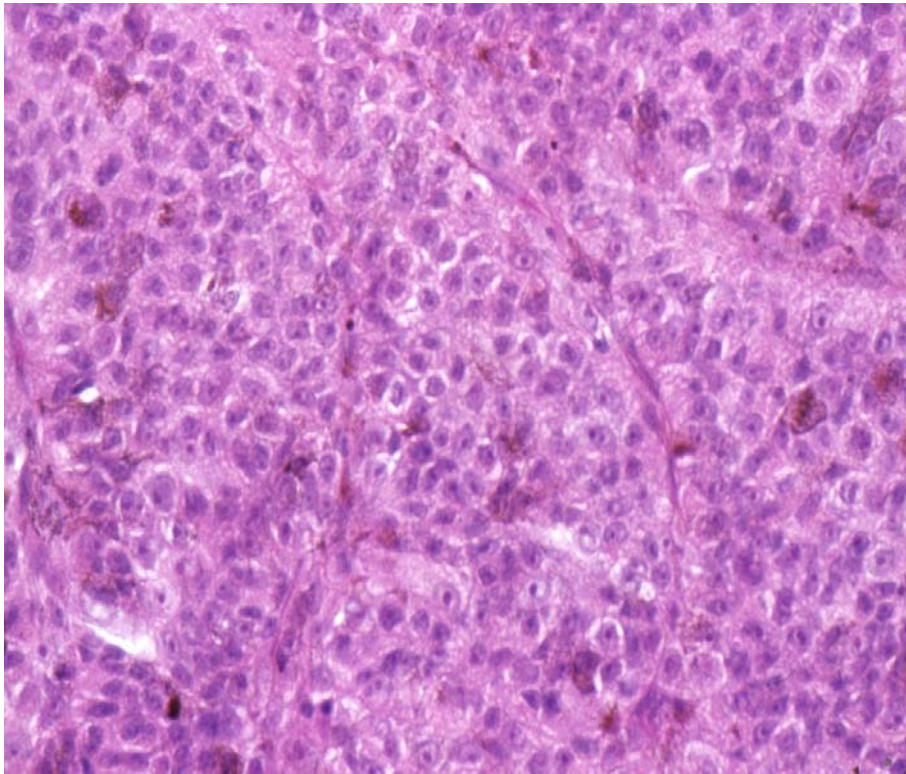
Histologisch werden Aderhautmelanome in drei Gruppen klassifiziert: Spindelzellmelanome, Epitheloidzellmelanome und gemischtzellige Melanome. Die Hauptveränderungen stellen Nukleusgröße und Pleomorphismus dar. Spindelzellen zeigen einen runden oder ovalen Kern mit einem prominenten Nukleolus. Der Zytoplasmaraum der einzelnen Zelle ist schlecht differenziert, so dass die Zellen dazu neigen, ineinander überzugehen und ein Syncytium zu formen. Spindelzellmelanome haben eine relativ gute Prognose. Epitheloidzellen sind groß, oval oder rund, mit gut begrenzten Zellmembranen, eosinophilem Zytoplasma und runden Kernen mit prominenten Nukleoli. Die Zellen können sowohl in Größe und Form (Pleomorphismus) variieren als auch hinsichtlich der Pigmentmenge. Mitosen sind reichlich vorhanden. Epitheloidzellmelanome haben eine schlechte Prognose. Gemischtzellige Tumoren bestehen aus einer Kombination von Spindel- und Epitheloidzellen. Wie zu erwarten, haben diese Tumoren eine intermediäre Prognose [44]. Abbildung 2 zeigt im Bild A ein Aderhautmelanom an einem post mortem Bulbus (makroskopisch). Die histologische Präparate zeigen zuerst ein Epitheloidzellmelanom (B) und im Bild C, ein Spindelzellmelanom.



A.



B.



C.

Abbildung 2: Histologie des Aderhautmelanoms (aus: Labor für Histologie der Augenklinik, LMU)

A. Makroskopischer Übersicht eines AH-MM. Die Netzhaut ist abgehoben. B. Epitheloidzellen sind groß, oval oder rund, mit gut begrenzten Zellmembranen, eosinophilem Zytoplasma und runden Kernen mit prominenten Nukleoli. C. Spindelzellmelanom. Die Kerne sind rund oder oval, der Zytoplasmarand der einzelnen Zelle ist schlecht differenziert.

1.2 Therapieoptionen und ihre Bedeutung bei Metastasen

Bei kleineren oder unklaren melanozytären Tumoren wird – obwohl früher sehr kontrovers diskutiert – heute eine abwartende Haltung bis zu nachgewiesenem Wachstum empfohlen [20, 54]. Bei nachgewiesenem Tumorwachstum stellt für flache Tumoren (< 3 mm) am hinteren Augenpol die Photokoagulation eine Therapieoption dar. Mittels Argon-Grün-Laser werden die Tumoren mit Herden umstellt um die Gefäßversorgung zu unterbinden. Diese Behandlung muss gegebenenfalls mehrfach wiederholt werden. Als Kontraindikationen gelten Tumoren mit einer maximalen Tumorphöhe von mehr als 3 mm und Melanome mit einer Begleitablatio. Da lokale Rezidive nach dieser Therapieform häufig auftreten ist eine langfristige und engmaschige Nachkontrolle erforderlich [71, 72]. Ein anderer Ansatz in der Therapie kleinerer Melanome stellt die Transpupilläre Thermotherapie (TTT) dar. Im Gegensatz zur Photokoagulation wird bei dieser Therapieform mit einem Diodenlaser im Infrarotbereich eine Hyperthermie des Tumorgewebes mit Temperaturen zwischen 45 und 60° C erzeugt [61, 65].

Die am häufigsten angewandte Therapie in der Behandlung des uvealen Melanoms ist die Brachytherapie. Ein wesentlicher Vorteil dabei ist die selektive Ausrichtung des Strahlenfeldes. Für die Brachytherapie stehen unterschiedliche Strahlenträger zur Verfügung, wie z.B. mit Ruthenium 106 beschichtete Träger [48, 71]. Allerdings können in der Regel Tumore, die eine maximale Prominenz von mehr als ca. 6,5mm aufweisen, mit diesen Strahlenträgern nicht mehr zuverlässig behandelt werden. In diesen Fällen kann eine lokale Therapie mit Jod-125-Applikatoren erfolgen. Die Strahlenträger werden operativ auf der Sklera des betroffenen Auges fixiert. Die Liegedauer variiert in Abhängigkeit von der aktuellen Dosisleistung des Trägers und der maximalen Tumorprominenz zwischen ein und zehn Tagen. Mögliche Komplikationen infolge einer Brachytherapie sind: exsudative Ablatio retinae, massiver intraokularer Reizzustand infolge einer Tumornekrose, strahleninduzierte Katarakt, Optikusneuropathie und Strahlenretinopathie. In 80 – 90 % der Fälle kann eine Tumorregression nach Bra-

chytherapie erzielt werden. Bei unzureichender Regression ist eine zweite Brachytherapie möglich. Der Erhalt der Sehschärfe des Auges ist in erster Linie von der Lokalisation des Tumors abhängig und gelingt vor allem bei peripher liegenden Melanomen häufiger als bei zentral liegenden Tumoren, da hier die Makula nicht betroffen und auch die Gefahr strahlenbedingter Schädigung des Sehnerven geringer ist [71].

Eine Therapieoption für große und ungünstig gelegene uveale Melanome, die für eine Behandlung mit Ruthenium-106-Applikatoren nicht geeignet sind, ist die externe Bestrahlung (Teletherapie) mit Protonen bzw. Helium-Ionen [30]. Beide Therapien erfordern einen erheblichen technischen Aufwand und können nur an entsprechenden Großanlagen durchgeführt werden, die teuer und aufwändig zu betreiben sind und dementsprechend nur vereinzelt verfügbar sind. Als Alternative dazu wird seit 1997 in München die Bestrahlung mit dem Gamma-Knife durchgeführt. Bei dem Bestrahlungsmodus mit dem Gamma-Knife handelt es sich um eine stereotaktische Einzeldosiskonvergenzbestrahlung. Im Gegensatz zur Protonen- und Heliumionentherapie mit fraktionierter Bestrahlung über mehrere Tage wird mit dem Gamma-Knife eine einzeitige Bestrahlung von ca. 15 – 30 min Dauer durchgeführt. Zur Ruhigstellung des Auges ist eine Retrobulbäranästhesie notwendig, die Behandlung kann ambulant durchgeführt werden. Eine sehr hohe lokale Tumorkontrollrate von 98 % wurde beschrieben, und die Rate an exsudativer Netzhautablösungen ist relativ gering [58].

Für die Therapie juxtapapillärer Aderhautmelanome wurden neue Ansätze zur lokalen Tumoresektion ab interno entwickelt. Bei dieser noch nicht in der klinischen Routine etablierten Methode wird das Aderhautmelanom im Rahmen einer Vitrektomie entfernt. Die Resektion kann entweder nach einer peripheren Retinotomie oder sogar transretinal erfolgen. Zusätzlich erfolgt eine niedrig dosierte Brachytherapie mit einem Ruthenium-106-Applikator, um verbleibende Tumorzellen im entstandenen Kolobomareal zu zerstören. Eine endgültige Wer-

tung dieser neuen Methode kann in Anbetracht der noch fehlenden Langzeitverläufe und kleiner Fallzahlen nicht erfolgen [24, 45, 71].

Bei hochprominenten Tumoren, die nasal und anterior des Äquators des Auges liegen und eine limbusparallele Ausdehnung von maximal drei Uhrzeiten aufweisen, kann eine operative transsklerale Exzision erfolgen. Insgesamt stellt dieser Form der lokalen Tumorresektion eine sichere und zuverlässige Behandlungsmethode dar. Aufgrund der strengen Auswahlkriterien steht diese Therapieform jedoch nur für einen kleinen Teil der Patienten zur Verfügung [71]. Bechrakis *et al.* haben die Jod-125-Brachytherapie in Kombination mit transskleraler Resektion in einem Gesamtkollektiv von 211 Patienten mit uvealem Melanom verglichen [6]. Es zeigte sich, dass die Resektion im Vergleich zur Jod-125-Brachytherapie einen besseren langfristigen Visuserhalt ermöglicht. Außerdem besteht nach Jod-125-Brachytherapie eine sechsfach höhere Rate an Sekundärglaukomen im Vergleich zur transskleralen Resektion. Die sekundäre Enukleations- und Mortalitätsrate war in beiden Gruppen gleich [6].

Die letzte Therapieoption für große uveale Melanome ist die Enukleation des gesamten Auges. Die Indikation für eine Enukleation besteht, wenn eine Tumorkontrolle mit bulbuserhaltenden Therapiemaßnahmen nicht mehr möglich ist oder das Auge infolge der Therapie erblindet würde [71]. In den letzten Jahren haben allerdings die bereits zitierten konservativen Therapien eine zunehmende Bedeutung gewonnen, so dass die Indikation für eine Enukleation immer seltener gestellt wird.

Auch nach erfolgreicher Behandlung des Primärtumors, hat ein Teil der Patienten mit einem uvealen Melanom eine hohe Metastasierungshäufigkeit [50, 75, 76]. Die dafür verantwortlichen Prozesse sind noch unklar. Es wurde spekuliert, dass mechanische Manipulationen im Rahmen der Erstbehandlung, z.B. einer Enukleation, zu einer Ausschwemmung von Tumormaterial führen [75, 76]. Diese von Lorenz Zimmerman aufgestellte These führte zu mehreren

Studien, die zu klären versuchten, ob eine Brachytherapie oder eine chirurgische Entfernung des uvealen Melanoms die bessere Therapieform darstellt, um Metastasen zu verhindern. Augsburger *et al.* haben in einer komparativen Langzeitstudie die Überlebensrate von Patienten nach Enukleation mit denen von Patienten nach Brachytherapie mit Kobalt-Plomben verglichen. Diese retrospektive Analyse von 269 Patienten über 15 Jahre zeigte keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Überlebensrate [4]. Bechrakis *et al.* beobachteten keinen Unterschied hinsichtlich der Mortalitätsrate nach Jod-125-Brachytherapie und auch transskleraler Tumorsektion [6].

Die Hypothese von Zimmerman ist ferner Grundlage vom National Institute of Health gesponserten großen multizentrischen Studie (Collaborative Ocular Melanoma Study Group, COMS), die weiterhin den Einfluss der Erstbehandlung bei der Metastasierung uvealer Melanomen evaluiert [20, 21]. Die COMS-Studie hat zusätzlich untersucht, ob bei großen chorioidalen Melanomen eine Bestrahlung vor Enukleation das Metastasierungsrisiko reduziert. Es konnte histologisch gezeigt werden, dass bestrahlte Tumoren eine deutlich geringere mitotische Aktivität aufwiesen als nicht bestrahlte Tumoren. Dagegen unterschieden sich jedoch beide Gruppen in der Melanom-abhängigen 5-Jahres Überlebensrate interessanterweise nicht [21, 54].

Aus der COMS-Studie geht hervor, dass die Metastasierungsrate nicht so sehr von der Art der Behandlung beeinflusst wird. Die meisten gegenwärtigen Hypothesen beinhalten die Annahme, dass zum Zeitpunkt der Erstbehandlung bereits Mikrometastasen bestehen, die durch humorale Faktoren vom Primärtumor unter Kontrolle gehalten werden [7, 35]. Durch Entfernung oder Verkleinerung des Primärtumors fallen diese Kontrollfaktoren weg oder werden reduziert, und die Mikrometastasen wachsen zu klinisch erfassbaren Tumoren heran [60].

Dazu wurde versucht, verschiedene Faktoren zu evaluieren, die prognostische Signifikanz besitzen. Diese lassen sich im wesentlichen in drei Gruppen gliedern: klinische, histologische und labortechnische Faktoren. Diese Faktoren werden im Folgenden ausführlich dargestellt [54].

1.3 Prognostisch relevante Parameter bei Aderhautmelanomen

1.3.1 Klinisch erfassbare Faktoren

Die Tumorphöhe ist ein wichtiger Prognoseparameter und kann mit der A-Scan-Sonographie gemessen werden. Wachsende Tumore haben ein achtfach höheres Metastasenrisiko als nichtwachsende Tumore [18, 53]. Auch die Lokalisation des Tumors ist ein wichtiger Parameter: Melanome, die vom Ziliarkörper ausgehen oder an den Ziliarkörper angrenzen, haben eine schlechtere Prognose. Hohes Alter, männliches Geschlecht, weiße Rasse, das Ausmaß der exsudativen Ablatio oder das Auftreten eines Rezidivs nach konservativer Behandlung sind weitere Parameter, die mit einem erhöhten Risiko zur Metastasierung verbunden sind. Auch die Invasion von Tumorzellen in die tieferen Lamellen der Sklera oder ein extrasklerales Wachstum sind prognostisch ungünstig [3].

Ferner haben Guthoff *et al.* die schnelle Regression nach Brachytherapie als aussagekräftig Parameter bei der Beschreibung der malignen Potenz eines Prozesses dargestellt [38]. In einer retrospektiven Studie wurde bei 246 Patienten die Tumorrückbildungsgeschwindigkeit mit dem Auftreten einer systemischen Metastasierung korreliert. Es wurde gezeigt, dass die mittlere Tumolvolumenhalbwertszeit bei den an Metastasen verstorbenen Patienten 4,4 Monate betrug und bei einer Vergleichsgruppe metastasenfrei lebender Patienten 6,6 Monate. Dieser Unterschied erwies sich als statistisch signifikant ($p = 0,0058$). Die Tumolvolumenhalbwerts-

rungszeit ist also mit der Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Metastasen statisch korreliert. In dieser Studie ließ sich auch eine statistisch nicht signifikante Abhängigkeit der Tumorrückbildungsgeschwindigkeit vom Tumorausgangsvolumen erkennen, sodass die Rückbildungsgeschwindigkeit eine eigenständige und unabhängige Bedeutung für die Prognoseabschätzung besitzt. Ein Kausalzusammenhang zwischen raschem Einschmelzen des Tumors und Vorhandensein von Epitheloidzellen wäre denkbar, jedoch nicht zwingend [38]. Gegen diesen Zusammenhang sprechen Untersuchungen der Gruppe von Coleman, die anhand von Ultraschall-Frequenzanalysen, epitheloidzellhaltige Tumoren von spindelzellhaltigen unterscheiden. Nach ihren Ergebnissen lässt sich in der Folge von Jod-125-Bestrahlungen kein Zusammenhang zwischen dem echographisch ermittelten Zelltyp und der Tumorrückbildungsgeschwindigkeit erstellen [19].

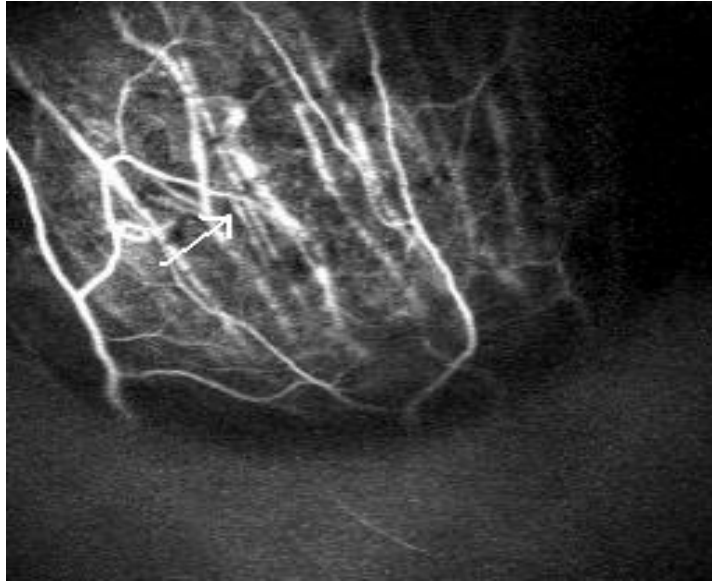
Verschiedene histopathologische Studien haben unabhängig voneinander gezeigt, dass bestimmte Tumorgefäßstrukturen, die sogenannte Mikrozirkulationsmuster (MZM), mit der Mortalitätsrate korreliert waren [17, 34, 49, 57, 64, 66]. Die MZM können nach einer PAS-Färbung ohne Gegenfärbung unter Grünfilter am besten dargestellt werden. Es wurden insgesamt neun verschiedene Muster beschrieben. Insbesondere „loops“ und „vascular networks“ wiesen auf aggressive und häufig metastasierende Tumoren hin [34]. Im Gegensatz dazu korrelierte der Nachweis von „silent zones“ oder „straight without crosslinking“, wie sie auch in Nävi gefunden werden, in denselben Studien mit einer guten Prognose quoad vitam. Uneinigkeit besteht nach wie vor über die Herkunft bzw. den Aufbau dieser Strukturen. Einerseits fehlen gefäßtypische Merkmale (z.B. Endothel), andererseits findet man Erythrozyten innerhalb dieser Räume. Nach den Überlegungen einiger Autoren sind MZM nicht als gefäßähnliche Strukturen anzusehen, sondern als spaltenförmige Zwischenräume innerhalb des Tumors. Für den Aufbau von MZM spielt die extrazelluläre Matrix wahrscheinlich eine besondere Rolle [3].

Die Arbeitsgruppe von Mueller hatte postuliert, dass diese prognostisch signifikanten MZM im Rahmen einer Angiographie durch die intravenöse Gabe von Farbstoffen wie Natrium-Fluoreszein oder Indozyanin-Grün dargestellt werden könnten [54]. Dadurch wäre es möglich, Patienten, die ein hohes Metastasierungsrisiko tragen, bereits klinisch zu identifizieren. Leider zeigt die Natrium-Fluoreszein Angiographie choroidaler Melanome weder ein spezielles pathognomonisches Muster noch ist es möglich, mit dieser Methode verlässlich die Tumervaskularisation darzustellen, weil die Interaktion des Tumors mit danebenliegenden Strukturen, wie z.B. dem retinalen Pigmentepithel oder der Netzhaut, das angiographische Bild beeinflusst. Bei der Angiographie mit dem Farbstoff Indozyanin-Grün wird eine Wellenlänge verwendet, die nahe dem infraroten Bereich liegt und daher pigmentierte Schichten wesentlich besser durchdringt als die kurzen Wellenlängen der Natrium-Fluoreszein Angiographie. Durch die Einführung der Scanning-Laser-Technologie in die Indozyanin-Grün Angiographie und durch die Kombination mit konfokalen Aufnahmetechniken konnte die Bildqualität deutlich gebessert werden. Somit wurde eine Darstellung von Gefäßen in pigmentiertem Gewebe möglich. In seiner Querschnittsstudie an 140 Patienten mit choroidalem Melanom konnte Mueller mittels der konfokalen Indozyanin-Grün Angiographie bei 91% der Patienten eine tiefe Tumervaskularisation darstellen, und alle histologisch beschriebenen MZM konnten auch angiographisch nachgewiesen werden [54].

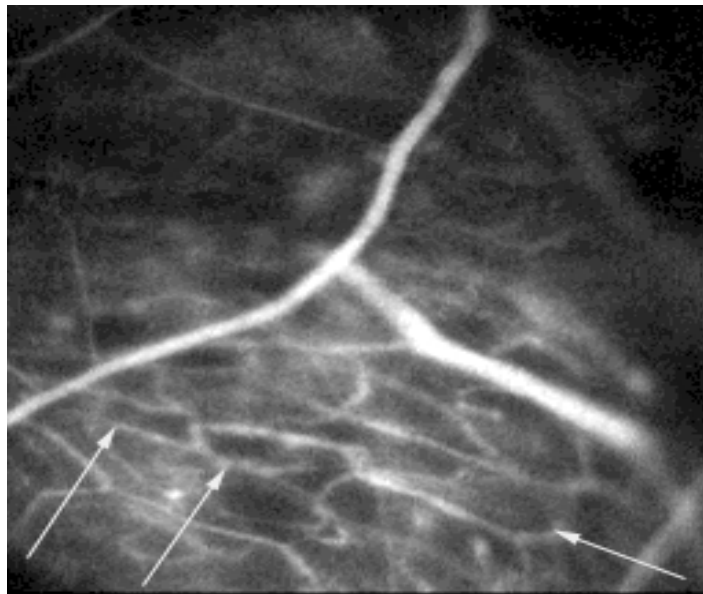
Um die MZM weiter zu untersuchen, hat Mueller choroidale Melanome auch an immunsupprimierten Kaninchen untersucht. Es konnte mittels konfokaler Indozyanin-Grün Angiographie in 13 der 16 Kaninchenaugen (81 %) MZM nachgewiesen werden, die in 12 Augen histologisch bestätigt wurden. Dabei wurden in überdurchschnittlich hohem Prozentsatz „networks“ und „loops“ festgestellt. In Übereinstimmung mit den histologischen Ergebnissen, waren MZM in flach diffusen Tumoren wesentlich seltener. Daraus konnte geschlossen werden, dass sich MZM vor allem in prominenten Tumoren entwickeln, während flache Tumoren

durch Diffusion aus der angrenzenden Chorioidea ernährt werden. Diese Beobachtung ist sehr gut mit Untersuchungen zu vereinbaren, die beschreiben, dass die extrazelluläre Matrix die Angiogenese steuert und die Ausbildung von „networks“ stimuliert [54, 66].

In einer multizentrischen, prospektiven und nicht randomisierten Studie wurde der prognostische Wert der angiographisch dargestellten MZM bei Patienten mit kleinen chorioidalen melanozytären Tumoren untersucht [57]. Die ersten Ergebnisse bei 70 Patienten wurden bereits dargestellt. In der univariaten Analyse waren die MZM „parallel with crosslinking“, „arcs with branching“, „loop“ sowie „network“ jeweils statistisch signifikant mit Tumorwachstum korreliert. Diese MZM wurden als „komplexe MZM“ zusammengefasst. In einer Multivariatanalyse aller statistisch signifikanten Faktoren waren der Nachweis von komplexen MZM ($p < 0,001$) sowie die maximale Tumorphöhe ($p = 0,036$) die einzigen unabhängigen Faktoren. Dabei hat die Bestimmung der angiographischen MZM gegenüber der maximalen Tumorphöhe den prinzipiellen Vorteil, dass sie eine binäre Variable darstellt, d.h., sie hat nur zwei Ausprägungen (vorhanden oder nicht). Dagegen stellt die Bestimmung der maximalen Tumorphöhe eine kontinuierliche Variable dar. Weiterhin in diesem Kollektiv betrug der positive prädiktive Wert (für Wachstum des Tumors innerhalb von 12 Monaten) beim angiographischen Nachweis komplexer MZM 78 % und der negative prädiktive Wert 98 %. Das heißt, wenn bei der Basisuntersuchung bei einem bestimmten Tumor angiographisch komplexe MZM nachgewiesen wurden, hat dieser eine 78 %iges Risiko innerhalb von 12 Monaten zu wachsen. Wurden dagegen keine komplexen MZM nachgewiesen, so hat der Patient eine 98 %ige Chance, dass der untersuchte Tumor innerhalb von 12 Monaten nicht wächst [55, 56, 57, 69]. Abbildung 3 zeigt zwei unterschiedliche MZM in der ICG Angiographie: Bild A zeigt ein als „parallel without crosslinking“ (bezeichnetes Pfeil) und Bild B ein als „network“ bezeichnetes MZM.



A.



B.

Abbildung 3: Mikrozirkulationsmuster in der Indozyanin Grün Angiographie (mit freundlicher Genehmigung: Prof. Dr. med. A. J. Mueller)

A. Das MZM „Parallel without crosslinking“ ist mit einer guten Prognose korreliert. B. „Network“ weist dagegen auf aggressive und häufig metastasierende Tumoren hin.

1.3.2 Histologisch erfassbare Faktoren

Beim Gewinn von Gewebeproben kommen andere wichtige prognostische Marker in Frage. Histologisch werden verschiedene Typen unterschieden (Spindelzelltyp, gemischtzelliger Typ und Epitheloidzelltyp), welche einen Einfluss auf die Prognose haben. Das Vorhandensein von epitheloiden Zellen im histologischen Präparat hat eine deutlich schlechtere Prognose als Spindelzellmelanome [70]. Allerdings zeigen sich die meisten uvealen Melanome histopathologisch als gemischtzellige Tumoren, was diesen Prognosenfaktor wiederum relativiert. Eine große Variabilität der Nukleusgröße (Kernpolymorphismus) weist ebenfalls auf eine schlechtere Prognose hin. Alle diese Korrelationen wurden an Enukleationspräparaten bestimmt. Es stand also viel Tumormaterial zur Verfügung. Diese Korrelationen gelten jedoch auch mit gewissen Einschränkungen für die diagnostische Entfernung von nur wenig Tumormaterial, wie es z.B. im Rahmen einer Feinnadelbiopsie gewonnen werden kann [4, 19, 54]. Allerdings wird immer wieder eingewandt, dass die Feinnadelbiopsie selbst ein Risikofaktor für die Ausschwemmung von Tumormaterial darstellt und somit das Metastasierungsrisiko erhöhen kann. Der überwiegende Teil der Ophthalmoonkologen sieht aus diesem Grund von einer routinemäßigen Gewinnung von Zellmaterial vor einer Behandlung ab [54].

1.3.3 Labortechnisch erfassbare Faktoren

Die Bedeutung immunologischer Aspekte im Prozess der Metastasierung wird zunehmend erkannt. Die Expressionsmuster von Human-Leucocyte-Antigen (HLA) -Molekülen im Tumor wurde von mehreren unabhängigen Gruppen beschrieben. Es konnte gezeigt werden, dass eine geringe HLA-A- und HLA-B-Antigen-Expression uvealer Melanome mit einer besseren Prognose einhergeht. Dies ist wahrscheinlich dadurch bedingt, dass Natural-Killer-Zellen bei geringer HLA-Expression den Tumor und seine Metastasen angreifen [11, 31].

Chromosomale Veränderungen wurden ebenfalls untersucht. Bei Aderhautmelanomen ist der Chromosom-3-Status prognostisch besonders wichtig. Während Tumore mit zwei intakten Chromosomen 3 selten metastasieren, entwickeln 70 % der Patienten mit Monosomie 3 eine systemische Metastasierung [3, 59]. Im Rahmen der chromosomalen Veränderungen spielen auch die Multiplikation von Chromosom 8q, der Nachweis von Onkogen c-myc und Punktmutationen von Suppressorgen p53 eine wichtige Rolle. Zu den labortechnisch erfassbaren prognostisch wichtigen Faktoren gehören noch die Expression von Melanom-assoziierten Antigenen (S-100, Mab079, HMB-45 usw.), morphometrische und flowzytometrische Faktoren sowie Faktoren, die die Zell-Zell- bzw. die Zell-Matrix-Interaktion von Melanomzellen betreffen [53].

1.4 Metastasierung und Screening bei AH-MM

Das Aderhautmelanom ist im Allgemeinen ein langsam wachsender Tumor. Basierend auf echographischen Größenmessungen von Metastasen von Aderhautmelanomen konnten mittlere Tumorverdopplungszeiten von 30-80 Tagen berechnet werden [7].

Im Unterschied zum kutanen Melanom ist der Metastasierungsweg in der Regel primär hämatogen. Lebermetastasen sind in über 90 % aller Fälle die initiale Manifestation der systemischen Metastasierung. Die Überlebensrate von Patienten mit Metastasen ist normalerweise kürzer als ein Jahr und sinkt weiter auf drei Monate, wenn die Leber betroffen ist [37]. Lungenmetastasen finden sich in 24% und Knochenmetastasen in 16% aller Fälle. Die meisten Metastasen werden ca. 3-4 Jahre nach der Diagnose manifest, und bei fast 90% der Patienten mit manifesten Metastasen finden sich mehrere betroffene Organe. Screeninguntersuchungen zur Früherkennung von Metastasen werden routinemäßig durchgeführt und umfassen folgende Diagnoseverfahren: die Bestimmung von Leberenzymen [AST (Aspartat-

Aminotransferase), ALT (Alanin-Aminotransferase), AP (alkalische Phosphatase) und LD (Laktat-Dehydrogenase)], die Oberbauchsonographie, die Computertomographie (CT) und Röntgen-Thorax.

In einer Studie an 46 Patienten mit metastasierendem Aderhautmelanom dokumentierten Eskelin *et al.* bei 70 % der Patienten mindestens ein erhöhtes Leberenzym [32, 62]. Die Sensitivität von AST, ALT und AP variierten von 0,27 bis 0,43, während die von der LD bei 0,67 lag. Die Spezifität von allen Enzymen variierte von 0,90 bis 0,96. Patienten, die zum Zeitpunkt der Diagnose der Metastasierung symptomatisch waren, wiesen im Vergleich zu asymptomatischen Patienten häufiger erhöhte AP- und AST-Werte auf [32]. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Hicks *et al.* in einem Kollektiv von 235 Patienten [39]. Eine andere Studie beschrieb, dass die Leberenzyme schon sechs Monate vor der Diagnose einer Metastasierung eine Steigerungstendenz (noch innerhalb der Normgrenzen) aufwiesen [42].

Eskelin *et al.* zeigten ferner, dass die Sonographie in 89 % der Fälle tatsächliche Metastasen diagnostizierte oder eine CT-gesteuerte Feinnadel-Aspirationsbiopsie zur Folge hatte [32]. Dabei erwies sich die mit arterieller Portographie kombinierte CT als die sensitivste Bildgebung. Während diese Methode nur als Staging eingesetzt wird, eignet sich die Oberbauchsonographie wegen ihres geringen Aufwandes gut als Screening Untersuchung, ist jedoch stark von den Untersuchungsbedingungen abhängig (z.B. Luftüberlagerungen, subkutanes Fettgewebe) [32]. In einer retrospektiven Studie wurde gezeigt, dass sich mit Hilfe einer CT eine Metastase im Vergleich zu US früher und genauer darstellen lässt [46].

In einem aktuellen Bericht von dem COMS wurden die Daten von 714 Patienten mit einem metastasierenden Aderhautmelanom analysiert [22]. Die Ergebnisse stimmten im Wesentlichen mit denen von Eskelin und Hicks: die Bestimmung von einem einzelnen Leberenzym ergab eine Spezifität von 98 bis 99 %. Allerdings zeigte sich die Sensitivität niedrig (0 bis 19

%), mit einer Steigerungstendenz bei großen Melanomen. Die Bestimmung von mehreren Leberenzymen konnte sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität erhöhen. Bei der COMS Studie zeigte sich die AP das sensitivste (88-94 %) sowie spezifischste Enzym (87-97 %) [22]. Bezüglich der bildgebenden Verfahren empfiehlt die COMS die Durchführung einer Oberbauchsonographie sowie eines Röntgen-Thorax bei der ersten Untersuchung. Diese beiden Methoden zeigten bei hoher Spezifität von 100 % eine niedrige Sensitivität, sodass die Notwendigkeit einer jährlichen Wiederholung in Frage steht. Das Röntgen-Thorax zeigte sich bei nur 3 % der Patienten (297 von 11.948 durchgeführten Röntgen-Bildern) auffällig. Dabei erscheint die Erstellung eines Ausgangsbefundes wichtig, um auszuschließen, dass es sich bei der Aderhautläsion um eine Metastase eines Lungenkarzinoms handelt. Weitere genauere (und auch teure) Bildgebungsverfahren wie z.B. die CT oder NMR sollten je nach Größe des Primärtumors bei der Diagnosestellung individuell indiziert werden [22].

Zusammenfassend wird nach dem gegenwärtigen Forschungsstand bei Patienten mit einem Aderhautmelanom eine halbjährliche Bestimmung der Leberenzyme empfohlen. Oberbauchsonographie und Röntgen-Thorax sollten bei der Basisuntersuchung sowie bei Beschwerden durchgeführt werden. Zusätzliche bildgebende Verfahren sind bei Risikopatienten (z.B. bei großen Tumoren) indiziert [22]. Ein einziger Parameter, wie z.B. ein Tumormarker, der gleichzeitig spezifisch und sensitiv ist und die Kosten nicht so sehr erhöht, ist bisher für den klinischen Alltag nicht etabliert.

Tumormarker sind wertvolle nichtinvasive Hilfsparameter im Gesamtkonzept der ärztlichen Betreuung von Tumorpatienten. In Tabelle 1 werden unterschiedliche Tumormarker mit entsprechenden sinnvollsten Einsätzen dargestellt. Die Marker werden meistens im Follow-up benutzt, wie z.B. das CEA für Colon- oder Mamakarzinom, sowie CA125 für das Ovarkarzinom. Allerdings werden einige im Screening verwendet, wie z.B. das PSA bei Prostatakarzinom.

Marker	Screening	Diagnose	Follow-up	Prognose
CEA	C-Zelltumore	C-Zelltumore	Colon, Mamma, Lunge, C-Cell	Colon, Magen, Mamma
AFP	Risikogruppe	Keimzell, HCC	Keimzell, HCC	Keimzell
CA 19-9		Pankreas	Pankreas, Gallenwege	Colon
CA 72-4			Magen, Ovar (muzinös)	
CA 125			Ovar (serös)	Ovar (serös)
CA 15-3			Mamma	Mamma
NSE		Lunge (kleinzellig)	Lunge (kleinz.), Neuroblast., Apud.	Lunge
ProGRP		Lunge (kleinzellig)	Lunge (kleinzellig)	
SCC			Zervix, HNO-Tumore, Ösoph.	
CYFRA 21-1		Lunge (NSCLC)	Lunge (NSCLC), Blase	NSCLC
HCG	Risikogruppen	Keimzell trophoblast. Tu.	Keimzell trophoblast. Tu.	Keimzell trophoblast. Tu
PSA	Prostata	Prostata	Prostata	
Calcitonin	C-Zelltumore	C-Zelltumore	C-Zelltumore	C-Zelltumore
HTG			diff. Schilddrüsen-Carcinom	
S 100			Mal. Melanom	Mal. Melanom

Tabelle 1: Heutiger Einsatz von Tumormarkern in der Medizin

Unterschiedliche Tumormarker werden dargestellt. Die Marker werden meistens im Follow-up benutzt. Allerdings werden einige im Screening verwendet, wie z.B. das PSA bei Prostatakarzinom.

1.5 Tumormarker bei Melanomen (der Haut und der Uvea)

Es ist anzumerken, dass die Tumormarker bei Melanomen der Haut nicht immer für uveale Melanome verwendet werden sollten, denn trotz gleicher embryonaler Herkunft sind uveale und Hautmelanozyten sowohl funktionell als auch morphologisch unterschiedlich [12]. Melanozyten der Haut produzieren beispielsweise ununterbrochen Melanin, während uveale Melanozyten nur für eine kurze Zeit nach dem Geburt Melanin produzieren und danach inaktiv werden. Die aus diesen Zellen entstehenden Tumoren (Aderhaut- und Hautmelanom) sind daher auch klinisch unterschiedlich: Sie metastasieren in verschiedenen Organen und reagieren unterschiedlich auf Chemotherapien [2, 28].

Ein serologischer Marker, der bei Melanomen der Haut von Goto *et al.* untersucht wurde, ist der 5-S-Cysteinyl-dopa. Die Aufbereitung und Untersuchung dieses Markers ist jedoch sehr aufwendig, weswegen er in der klinischen Routine nicht eingesetzt wird [36].

Im Jahr 1980 wurde das S100 β -Protein erstmals in humanen Melanomzelllinien entdeckt. Dieses Protein gehört zur Gruppe S100 von Proteinen, die kalziumbindend sind, und wird weitgehend für die immunohistochemische Diagnose von amelanotischen Melanomen benutzt. In den letzten Jahren erschienen einige Arbeiten, die darauf hindeuten, dass S100 β ein serologischer Marker im Rahmen des Metastasenscreening bei Melanomen der Haut sein könnte. Bei erkrankten Patienten wurde ein stadienabhängiger Anstieg der S100 β -Konzentration sowie eine Korrelation zwischen der Menge des messbaren S100 β und der Prognose der Erkrankung gezeigt [25, 27, 40, 74]. Deichmann *et al.* zeigten bei 71 Patienten mit Melanom Stadium IV eine höhere Sensitivität vom S100 β (0,91) im Vergleich zu LDH (0,79). LDH wies allerdings mit 92 % eine höhere Spezifität als S100 β auf [25].

Dieser Zusammenhang gilt allerdings nicht für Aderhautmelanome. Kan-Mitchell *et al.* haben die Expression von S100 β in Zellen und Gewebeproben von uvealen und Hautmelanomen

durch eine „Protein Chain Reaction“ (PCR)-Methode quantifiziert. Dabei wiesen uveale Melanome eine signifikant niedrigere Expression von S100 β auf als Melanome der Haut. Möglicherweise wird von Aderhautmelanomen ein anderes S100-Protein exprimiert [43].

Weiterhin zeigte die Studie von Bosserhoff *et al.* bei Melanomen der Haut eine niedrigere Sensitivität von S100 β im Vergleich zu dem Protein MIA (Melanoma inhibitory activity), einem vielversprechenden Serummarker, der im nachfolgenden Abschnitt detailliert vorgestellt wird [14].

1.6 MIA: Melanoma inhibitory activity

MIA ist früher als kleines und lösliches von Melanomzellen *in vitro* produziertes Protein isoliert worden. Durch spätere Expressionsstudien sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene konnte gezeigt werden, dass MIA *in vivo* und *in vitro* von Melanomzellen und Chondrozyten exprimiert wird. Aus einem Proprotein 131-Aminosäuren entsteht ein Protein 107-Aminosäuren, das in den Extrazellularraum sezerniert wird. Die sehr stark auf spezifische Zelltypen limitierte Expression wird durch den MIA-Promoter kontrolliert [10, 14, 16].

Melanozyten aus normaler Haut exprimieren im Gegensatz zu Melanomzellen kein MIA. Weitere Analysen zeigten eine schwache bis mittlere MIA- Expression in 12 von 17 Gewebeproben gutartiger melanozytärer Nävi, während alle primären und metastasierenden Melanome eine starke Expression aufwiesen. Es wurde bei keiner weiteren neoplastischen Erkrankung eine durchgehende MIA- Expression beobachtet, mit Ausnahme weniger fortgeschrittener epithelialer Tumore (Kolon- und Mammakarzinome) wahrscheinlich als Folge der nicht-spezifischen Bindung zu dem von diesen Tumoren produzierten Mucin [15].

Unterschiedliche Faktoren spielen eine wichtige Rolle bei der Metastasierung eines Aderhautmelanoms. Im Rahmen der Zell-Zell Interaktion sind Adhäsionsmoleküle wie z.B. Immunglobuline, Cadherine, Selektine und Intergrine sowie der Genverlust, der zu einem Rezeptor- und Kohäsionsverlust führt, von großer Bedeutung. Für die Zell-Matrix Interaktionen sind sowohl Proteinasen als auch Plasminaktivatoren, die für den Abbau von Kollagenen, Laminin und Fibronectin verantwortlich sind, wichtig [63]. Die Entdeckung von MIA hat das Verständnis für die Bedeutung der Adhäsion im Rahmen der Tumorgenese maligner Melanome weiterhin vertieft [15]. Die erste beschriebene Funktion von MIA besteht in der Proliferationshemmung von Melanomzellen *in vitro*. Nähere Analysen der Funktion zeigen, dass MIA die Bindung der Melanomzellen beeinflusst: Durch die spezifische Bindung an Fibronectin und Laminin wird die Bindungsstelle der Zelloberflächenmoleküle (Integrine) maskiert. Die Sekretion von MIA vermindert daher das Anheften der Melanomzellen an die umgebenden Matrixproteine und führt so zu einer erhöhten Motilität der Zellen. Diese können somit den Primärtumor verlassen und metastasieren [15]. Das in Abbildung 4 dargestellte Schema soll die Funktion von MIA im Melanom verdeutlichen.

Für die quantitative Bestimmung von MIA im Serum wurde ein ELISA etabliert. Der obere MIA-Normalwert wurde nach Bestimmung im Serum einer gesunden Kontrollgruppe bei 6,5 ng/ml definiert. Im Bereich des malignen Melanoms der Haut zeigt die Bestimmung von MIA klinische Relevanz. Bosserhoff *et al.* berichteten von einem signifikant erhöhten MIA-Serumspiegel in 13 % bzw. 23 % der Patienten mit Stadium I bzw. II der Erkrankung, sowie in 100 % der Patienten mit Stadium III oder IV [15]. Abbildung 5 zeigt den Anteil an MIA-positiven Patienten in der untersuchten Gruppe sowie den Median des Serumwertes.

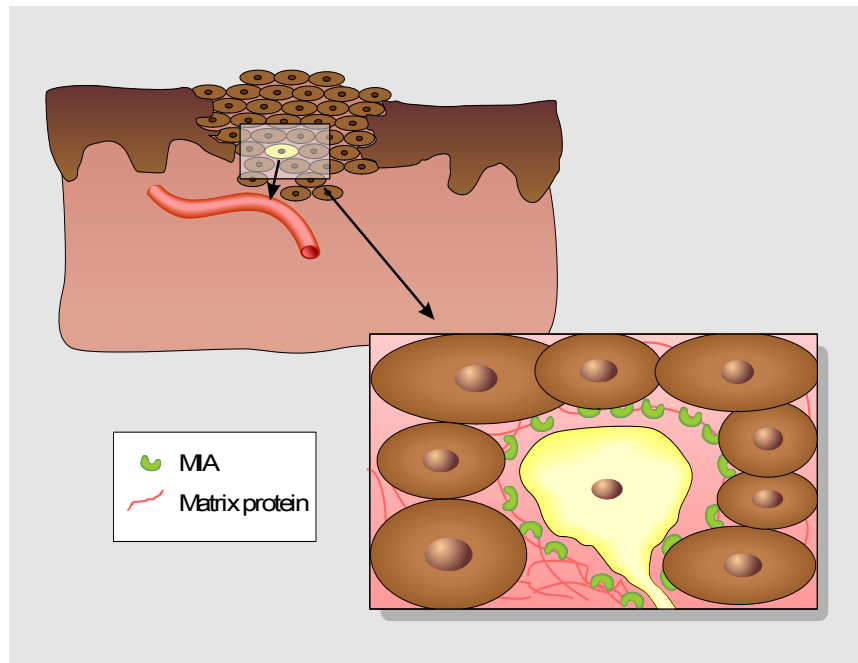


Abbildung 4: Schema der MIA-Funktion (aus: Bosserhoff *et al*, 1998)

Die Sekretion von MIA vermindert das Anheften der Melanomzellen an die umgebenden Matrixproteine und führt so zu einer erhöhten Motilität der Zellen. Diese können somit den Primärtumor verlassen und metastasieren.

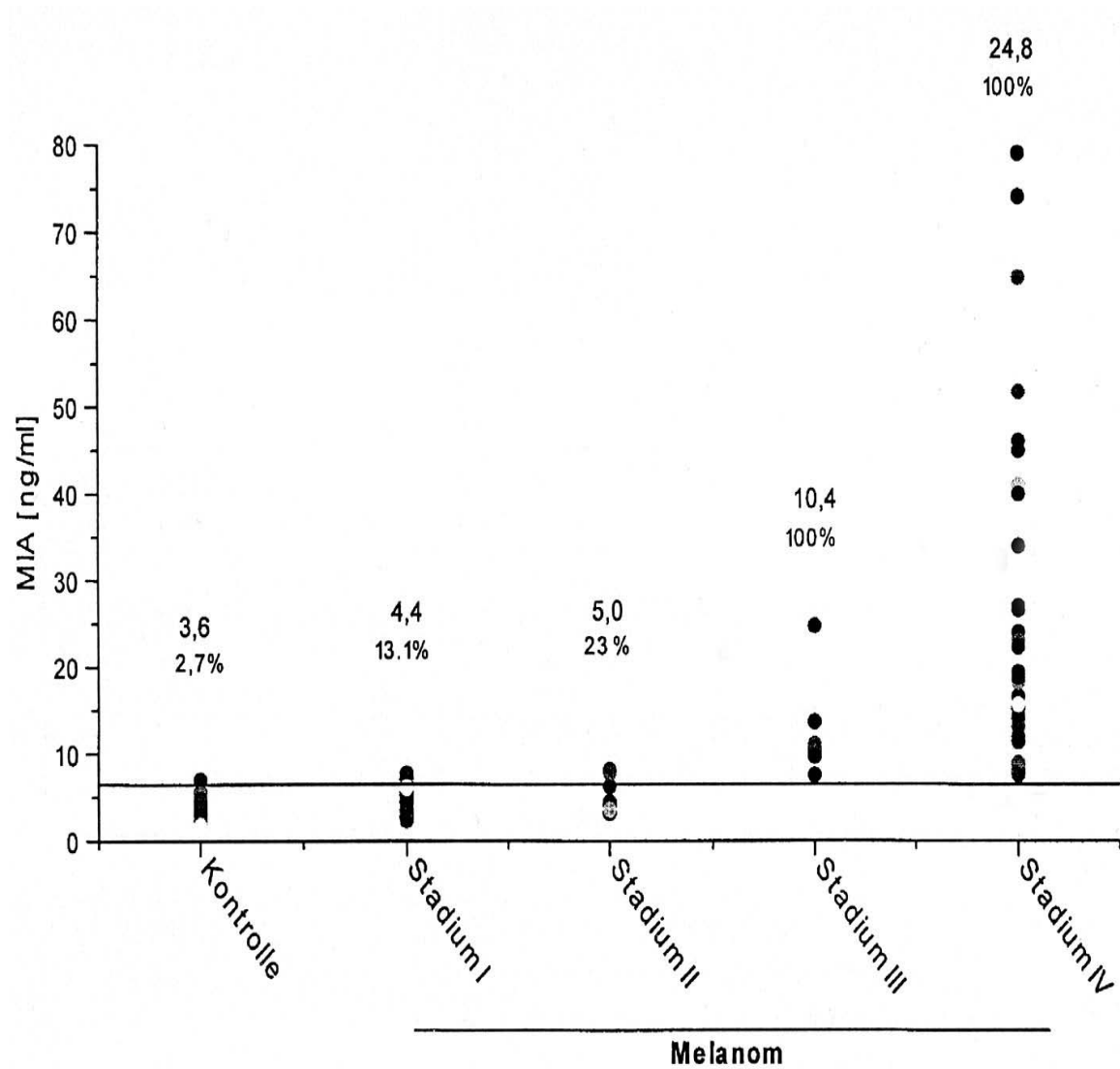


Abbildung 5: MIA-Werte bei Patienten mit Melanom der Haut in verschiedenen Stadien

(aus: Bosserhoff *et al*, 1998)

Im Bereich des malignen Melanoms der Haut ist die Bestimmung von MIA klinisch relevant. Es zeigten sich signifikant erhöhte MIA-Serumspiegel bei 13 % und 23 % der Patienten mit Stadium I bzw. II der Erkrankung, sowie in 100 % der Patienten mit Stadium III oder IV.

Nach histologischer Untersuchung dieser Tumore wurde keine klare Korrelation zwischen der Dicke des primären Tumors und den MIA Werten festgestellt. Weiterhin wurde bei Patienten mit Metastasen ein Vergleich von MIA-Werten vor der Therapie (operative Entfernung und/oder Chemotherapie) und danach durchgeführt: Patienten, bei denen die Metastasen erfolgreich therapiert wurden, wiesen auch sinkende MIA-Werte auf. Auf der anderen Seite stiegen bei Rezidiven bzw. Progression der Erkrankung die Werte signifikant an.

Ferner untersuchten Bosserhoff *et al.* die Seren von 350 Patienten nach Therapie eines nicht-metastasierenden Melanoms (Stadium I und II). Dabei fanden sich bei 32 Patienten erhöhte MIA Werte, 15 Patienten dieser Gruppe entwickelten im Verlauf Metastasen. Dies wies darauf hin, dass eine Erhöhung des MIA-Werts der klinischen metastatischen Erkrankung vorangehen kann [14].

In einer anderen Studie haben Meral *et al.* MIA-Serumspiegel bei Patienten mit behandelten Melanomen der Haut im Verlauf kontrolliert [51]. Es wurden die Werte vor und nach Therapie verglichen und untersucht, ob die Abnahme eines Wertes nach Therapie mit der Überlebensrate korreliert und somit eine prognostische Bedeutung besitzt. Es wurde gezeigt, dass die Überlebensrate nach einem Jahr bei 13 Patienten mit einem rückläufigen MIA-Wert nach Therapie signifikant höher war als die Überlebensrate bei anderen 22 Patienten mit einem stabilen oder zunehmenden Wert [51].

Zusammenfassend zeigt sich die Bestimmung der MIA-Werte im Serum von Melanompatienten sehr spezifisch und kann sowohl eine Aussage über Metastasierungsgrad, die Prognose als auch der Verlauf und das Ansprechen auf eine Therapie geben. Allerdings sollte dabei nicht der Einzelwert sondern die Kinetik des Tumormarkers erfasst werden [14, 15].

Schaller *et al.* führten mit MIA-Antikörpern eine immunhistochemische Analyse an Gewebeproben von sechs amelanotischen uvealen Melanomen und acht Metastasen durch. Fünf von

sechs primären Tumoren und sieben von acht Metastasen wiesen eine MIA-Expression auf [68]. Tabelle 2 zeigt die Charakteristika der untersuchten primären Tumore.

Probe Nr.	Alter (Jahren)	Geschlecht	max. Prominenz (mm)	Zelltyp	extrasklerarer Wachstum	MIA Expression
1	80	weiblich	12	Spindel- zell B	+	++
2	48	männlich	9,5	Spindel- zell B	-	++
3	53	männlich	9,2	Spindel- zell B	-	+
4	42	weiblich	11	Spindel- zell B	-	++
5	78	weiblich	14	Spindel- zell B	-	-

Tabelle 2: Charakteristiken der immunhistochemisch gefärbten primären AH-MM (aus: Schaller *et al*, 2002)

Bei der immunohistochemien Untersuchung von Gewebeproben mit MIA-Antikörpern zeigte sich bei fünf von sechs primären Tumoren eine positive MIA-Expression.

Außerdem untersuchten *Schaller et al.* in einer Pilotstudie MIA-Serumspiegel bei Patienten mit uvealem Melanom [67, 68]. Die MIA-Werte von Patienten ohne systemische Metastasierung wurden mit den Werten von Patienten mit Metastasierung verglichen, und die Differenz zwischen diesen beiden Gruppen zeigte sich statistisch signifikant. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes entwickelten drei Patienten eine Metastasierung, der MIA-Wert stieg nach der klinischen Diagnose der Metastasierung signifikant an. Weder eine Korrelation zwischen der maximalen apikalen Tumorphöhe und dem MIA-Serumwert noch ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten bereits behandelter und nicht behandelter Patienten (lokale Radiotherapie oder Enukleation) wurde festgestellt [67, 68]. Diese Daten deuten auf ähnliche Ergebnisse wie bei dem Melanom der Haut hin.

1.7 Prophylaktische Behandlung von Hochrisikopatienten

Die Entwicklung von spezifischen Melanomvakzinen ist ein innovatives Feld der Tumorummunologie. Durch Impfstoffe aus rekombinanten Proteinen oder Gentherapie-Ansätze wird die Expression von Melanomantigenen in T-Zellen *in vitro* sowie *in vivo* erreicht. Studien bei Patienten mit kutanem Melanom haben gezeigt, dass Remissionen einer metastasierten Erkrankung durch eine Immunantwort prinzipiell möglich sind [7].

Dithmar *et al.* haben im Tiermodell den Effekt verschiedener Therapien auf die Mikrometastasierung von uvealen Melanomen untersucht [26]. Zuerst wurden C₅₇BL6-Mäusen Melanomzellen intrachoroidal/subretinal injiziert. Nach der Entwicklung Aderhautmelanomen wurden die Augen enukleiert. Verschieden Mausgruppen bekamen Interferon- α -2b nach unterschiedlichen Studienprotokollen intramuskulär injiziert. Die Versuche ergaben, dass die Injektion von Interferon- α -2b zu einer signifikanten Reduktion der Lebermikrometastasierung führt. Sollten diese Ergebnisse in Zukunft auf den Menschen übertragen werden können, steht mit dem Interferon- α -2b möglicherweise erstmals eine prophylaktische antimetastatische

dem Interferon- α -2b möglicherweise erstmals eine prophylaktische antimetastatische Therapie für das uveale Melanom zur Verfügung [26].

1.8 Behandlung des metastasierenden Aderhautmelanoms

Während Primärtumoren von Ophthalmoonkologen therapiert werden, findet die Behandlung von Patienten mit einer systemischen Metastasierung häufig in dermatoonkologischen Zentren statt. Metastasierte Aderhautmelanome zeigen eine Resistenz gegenüber Zytostatika, die für das kutane maligne Melanom etabliert sind [41]. Das ist darauf zurückzuführen, dass Uveamelanome als eigene Tumorentität aufgefasst werden.

Bei gutem Allgemeinzustand des Patienten und Operabilität der Metastasen scheint eine vollständige chirurgische Exzision zu einer Prognoseverbesserung zu führen. Bei inoperablen Patienten werden systemische Chemotherapien durchgeführt. Leider zeigen Therapieprotokolle des kutanen Melanoms Ansprechraten von weniger als 1 % und keine Verlängerung der Überlebenszeit [41].

Die Chemoembolisation von Lebermetastasen mit Cisplatin ist eine lokale Therapieoption und hat auch eine gewisse Effizienz, die palliativ besonders bei Patienten mit großen Metastasen sehr hilfreich sein kann. Dabei wird eine Portimplantation in die A. hepatica und anschließend eine intraarterielle Chemotherapie durchgeführt. Somit werden höhere lokale Medikamentenkonzentrationen erreicht. Eine gleichzeitige Hypoxigenierung der Metastasen durch Embolisation der versorgenden Gefäße führt zu höheren Ansprechraten [7].

Vergleichbar ermutigende Daten ergaben sich durch neue Therapieansätze mit dem Nitrosostoffderivat Fotemustin. Leyvraz *et al.* untersuchten die Wirkung einer regionalen Chemotherapie mit Fotemustin, und eine Remission von über 30 % wurde erreicht. Die Überle-

benszeit nach Fotemustin war doppelt so lang wie die erwartete Überlebenszeit dieser Patientengruppe [47]. Egerer *et al.* und Becker *et al.* haben auch positive Ergebnisse nach regionaler Therapie mit Fotemustin berichtet [9, 29].

Neue Daten weisen auf einen synergistischen therapeutischen Effekt bei einer Kombination von Fotemustin mit Interferon- α und Interleukin-2 hin [1]. Diese zwei immunstimulierende Zytokine induzieren häufig Remissionen, die dauerhaft sind. Becker *et al.* konnten eine Verlängerung der medianen Überlebenszeit zeigen [8]. Terheyden *et al.* konnten auch in einer Pilotstudie ein überraschend günstiges Ansprechen von Patienten mit Aderhautmelanom nach einer Behandlung mit dieser Kombinationstherapie zeigen [73].

Neue experimentelle Studien haben allerdings gezeigt, dass Substanzen wie Paclitaxel und Treosulfan eine Aktivität gegen Aderhautmelanomzellen *ex vivo* haben. Außerdem sind Cytarabin und Gemcitabine, die DNA-Repairmechanismen inhibieren, mit Treosulfan synergistisch. Klinisch ist die Kombination von Treosulfan und Gemcitabine besonders interessant [7].

2 Fragestellung

Ziele dieser Studie waren die weitere Kontrolle der MIA-Serumwerte der bereits von Schaller *et al.* rekrutierten Patienten mit uvealem Melanom (in der Augenklinik der LMU, München) und die Rekrutierung neuer Patienten, um den Verlauf der MIA-Serumspiegel bis zu einer systemischen Metastasierung zu untersuchen. Weiter sollte die Entwicklung der Metastasierung unter und nach Chemotherapie serologisch überwacht werden. Zusammenfassend es sollte überprüft werden, ob MIA für das Tumor- und Metastasenmonitoring des uvealen Melanoms als spezifischer Tumormarker geeignet ist.

Im Einzelnen ging es dabei um folgende Fragestellungen:

- 1- Ist das MIA ein sensitiver und spezifischer Serummarker für das primäre Staging des uvealen Melanoms?
- 2- Besteht eine Korrelation zwischen der maximalen apikalen Tumorböhe und dem MIA-Serumwert?
- 3- Hat die Behandlung des Melanoms einen Einfluss auf die serologischen MIA-Serumspiegel?
- 4- Zeigen die Patienten mit Metastasen höhere MIA-Serumspiegel als die Patienten ohne Metastasen?
- 5- Kann eine Erhöhung des MIA-Serumwertes nach Auftreten einer Metastasierung festgestellt werden?
- 6- Können Änderungen des MIA-Werts nach Chemotherapie eine Aussage über eine Stabilisierung oder ein Fortschreiten der Metastasierung machen?

3 Patienten und Methode

3.1 Patientenrekrutierung und Untersuchung

Von November 1997 bis Februar 2004 wurden in einer prospektiven Studie MIA-Serumspiegel von insgesamt 305 konsekutiven Patienten mit uvealem Melanom untersucht. Alle Patienten wurden in der Ambulanz der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität, München rekrutiert. Bei jeder Vorstellung in der Klinik wurden eine ausführliche Anamnese sowie eine vollständige ophthalmologische Untersuchung durchgeführt. In der Anamneseerhebung wurden eventuell durchgeführte Behandlungen des primären Tumors dokumentiert sowie auf die Anwesenheit bzw. die Entwicklung von Metastasen geachtet. Bei der klinischen Untersuchung wurde der bestkorrigierte Visus geprüft, intraokularer Druck gemessen und vordere sowie hintere Augenabschnitte mit der Spaltlampe untersucht. Ferner wurde die maximale Prominenz und Basisdiameter des Tumors mit der standardisierten Echographie gemessen. Die Läsionen wurden unter Berücksichtigung vorbeschriebenen Kriterien als Melanome oder Aderhaut-Nävi mit V. a. maligner Transformation klassifiziert. Bei jeder Kontrolluntersuchung wurde auch ein klinisches Fundusfoto zur Dokumentation aufgenommen.

3.2 Materialgewinnung und Probenbearbeitung

Im Rahmen der vollständigen ophthalmologischen Untersuchung wurde jedem Probanden ca. 5 ml venöses Blut entnommen. Für die Blutabnahme wurden Monovette® Röhrchen (Sarstedt) mit Lithium Heparin verwendet. Die Proben wurden im Anschluss zentrifugiert (für 15 Minuten, 90 000 Umdrehungen / min, Hettich Universal), und ca. 1 ml Serum in ein separates Röhrchen abpipetiert.

Die Seren wurden anschließend vom pathologischen Institut der RWTH Aachen und vom Allergielabor der Dermatologie der Technischen Universität München (Leitung: Professor Hein) analysiert. Zur Quantifizierung des Proteins „melanoma inhibitory activity“ (MIA) wurde ein nichtradioaktiver ELISA (Roche Diagnostic, Boehringer Mannheim, Deutschland) verwendet. Die von Bosserhoff *et al.* beschriebene Methode wird nachfolgend kurz dargestellt [14].

Die Quantifizierung der MIA-Serumspiegel wird mittels eines einstufigen ELISAs durchgeführt. Zwei gegen das NH₂- und COOH-Ende der Peptide gerichtete monoklonale Antikörper werden an Meerrettich-Peroxidase bzw. Biotin konjugiert. Dann werden 10 µl Serum oder Standard mit 200 µl Reagenz (welches MAb-Biotin und MAb-Meerrettich-Peroxidase beinhaltet) für 45 Minuten unter Schütteln in Streptavidin beschichteten 96-well Mikrotiterplatten inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit PBS werden 200 µl 2,2-Azino-de-(3-Ethylbenz-Thiazolin-Sulfonat) 30 Minuten lang in der Mikrotiterplatte inkubiert und kolorimetrisch bei 405 nm gemessen. Mittels Standardkonzentration von rekombinant MIA gereinigt aus transfizierten chinesischen Hamster-Ovarzellen werden lineare Signale bei MIA-Konzentrationen zwischen 0,1 und 50 nm/ml gemessen. Die Reproduzierbarkeit dieses ELISA Tests wurde bereits demonstriert [14].

3.3 Statistische Analyse

Die statistische Verarbeitung der Daten wurde mit den Programme Microsoft Excel und SPSS 11.0 für Windows durchgeführt. Aufgrund der Verteilungseigenschaft der MIA-Werte (überprüft mit dem Kolmogorov- Smirnov- Test) wurden folgende nicht-parametrische Tests gewählt: Mann- Whitney- Test (für zwei unabhängige Stichproben) oder Kruskal- Wallis- Test (für mehr als zwei unabhängige Stichproben).

4 Ergebnisse

4.1 Epidemiologie / Probenzahl / Follow - up

Von den insgesamt 305 rekrutierten Patienten waren 163 (53,4 %) weiblich und 142 (46,6 %) männlich. Das Alter der Patienten variierte zwischen 23 und 88 Jahren (Median 62 Jahre), und der Häufigkeitsgipfel lag zwischen dem fünfzigsten und achtzigsten Lebensjahr, was der Literatur entspricht. Abbildung 6 zeigt die Verteilung der Patienten nach verschiedenen Altersklassen.

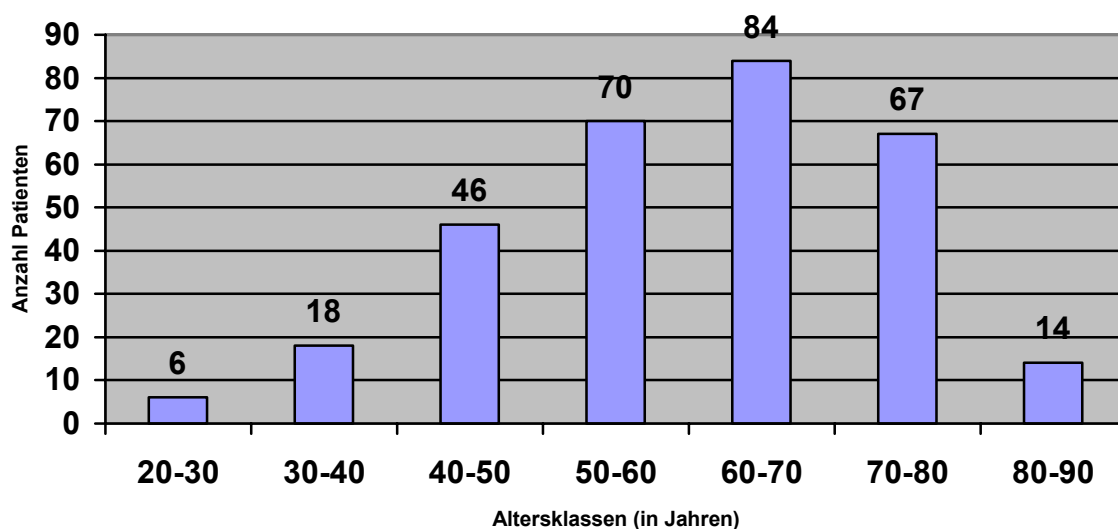


Abbildung 6: Altersverteilung in der Studiengruppe

Der Häufigkeitsgipfel in unserer Studiengruppe lag zwischen dem fünfzigsten und achtzigsten Lebensjahr, was der Literatur entspricht.

Bei 141 (46,2 %) der Patienten liegt eine einzige, isolierte MIA-Messung vor. Bei den anderen 164 (53,8 %) Patienten wurden zwei oder mehrere (bis zu sieben) Blutproben im Beobachtungszeitraum abgenommen und die jeweiligen MIA-Werte kontrolliert. Insgesamt wurden 629 Serumwerte analysiert. Abbildung 7 zeigt die relative Häufigkeit der Patienten nach der Anzahl der durchgeführten Untersuchungen. Die Dauer des „Follow-up“ betrug im Median 535 Tage (5. Perzentile: 52; 95. Perzentile: 1855 Tage).

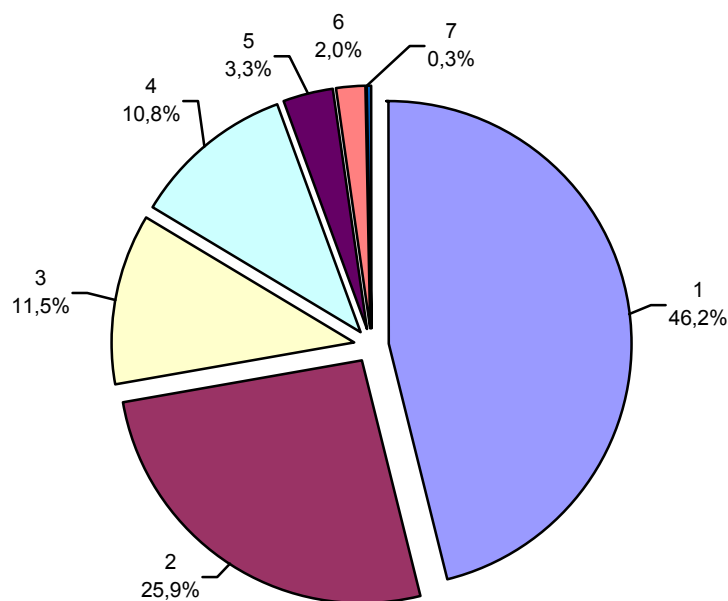


Abbildung 7: Anzahl der untersuchten Blutproben pro Patient

Bei 46,2 % der Patienten liegt eine einzige, isolierte MIA-Messung vor. Bei den anderen 53,8 % wurden zwei oder mehrere (bis zu sieben) Blutproben abgenommen.

Wie vorhin erwähnt wurde die maximale Prominenz des Tumors bei jeder MIA Bestimmung mit dem standardisierten Ultraschall gemessen. Diese betrug 0,9 bis 13,6 mm (im Median 3,4 mm).

Wie in Tabelle 3 aufgeführt, wurde innerhalb der Gruppe von Patienten ohne systemische Metastasierung (285 Patienten) bei 160 eine Behandlung des primären Tumors durchgeführt. Bei den anderen 125 Patienten wurde der Tumor mit dem Ultraschall regelmäßig beobachtet und aufgrund keiner Wachstumstendenz nicht behandelt. Die Tabelle zeigt zudem die absoluten und relativen Häufigkeiten der unterschiedlichen lokalen Therapien in der Gruppe ohne Metastasierung.¹ In mehr als 90 % der Fälle wurde eine bulbuserhaltende Therapie gewählt, wobei die Gamma-Knife Bestrahlung mit nahe 52 % die häufigste Behandlungsform darstellt.

Insgesamt wiesen 20 (6,55 %) der Patienten Metastasen auf. In allen Fällen handelte es sich um diffuse Lebermetastasen, und bei allen 20 Patienten wurde der Tumor bereits vor dem Auftreten von Metastasen lokal behandelt. Bei diesen Patienten betrug die maximale Prominenz des Tumors vor lokaler Therapie im Durchschnitt 8,31 mm (min: 5,2; max: 12,9).

¹ Die Anzahl an Patienten (160) unterscheidet sich von der Summe der Behandlungen (166), da sich sechs Patienten zwei verschiedenen Therapien unterzogen.

Patienten		Behandlungsarten					
		γ -Knife	Ru-106	Enukleation	TTT	Jod-Applikator	Σ
mit	160	86	60	11	8	1	166
Therapie	(56,1 %)	(51,8 %)	(36,1 %)	(6,6 %)	(4,8 %)	(0,6 %)	(100 %)
ohne	125						
Therapie	(43,9 %)						
Σ	285						
	(100 %)						

Tabelle 3: Therapiehäufigkeit und Behandlungsarten der Patienten ohne Metastasen

Die Gamma-Knife Bestrahlung stellt die häufigste Behandlungsform dar. In mehr als 90 % der Fälle wurde eine bulbuserhaltende Therapie gewählt.

4.2 MIA - Bestimmungen

4.2.1 MIA – Bestimmung bei Patienten ohne Metastasen

Die Serumkonzentration von MIA bei den 285 Patienten ohne Metastase betrug im Median 6,72 ng/ml (5. Perzentile: 4,62; 95. Perzentile: 11,55 ng/ml) (Tabelle 4). Die tabellarische Übersicht zeigt überdies die MIA-Werte in den Gruppen von Patienten mit unterschiedlichen maximalen Prominenzen. In der Gruppe von Patienten mit Tumoren einer maximalen Prominenz von weniger als 3mm lag der Median der MIA-Werte bei 6,75 ng/ml (4,43-11,78 ng/ml), in der Gruppe von Tumoren mit einer Prominenz zwischen 3 und 5 mm bei 6,8 ng/ml (4,22-12,29 ng/ml) und in der Gruppe mit einer maximalen Prominenz größer als 5mm im Median

bei 6,76 ng/ml (4,40-10,85 ng/ml). Der Kruskal-Wallis-Test weist auf keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen diesen drei Gruppen hin ($p > 0,9$). Der nicht-parametrische Kruskal-Wallis-Test für mehr als zwei unabhängige Stichproben wurde aufgrund der Verteilungseigenschaft der MIA-Werte gewählt. Dem Kolmogorov-Smirnov-Test zufolge kann die Hypothese, dass die MIA-Werte normalverteilt sind, verworfen werden ($p < 0,0001$).

	alle Patienten	max. Prominenz			lokale Behandlung	
MIA (ng/ml)		< 3 mm	3-5 mm	> 5 mm	vor/ohne	nach
Mittelwert	7,30	7,28	7,39	7,26	7,27	7,43
Median	6,77	6,75	6,80	6,76	6,73	6,94
Min	2,09	2,51	2,09	2,68	3,43	2,09
Max	17,74	17,47	17,74	16,12	15,94	16,87
Stdabw	2,38	2,30	2,67	2,20	2,17	2,44

Tabelle 4: MIA-Vergleich bezügl. der maximalen Prominenz und lokaler Behandlung in der Gruppe ohne Metastasen

Der MIA-Wert wird von der maximalen Prominenz und der Art der durchgeführten Behandlung nicht beeinflusst.

In der Gruppe von Patienten ohne Metastasen wurden die MIA-Werte bei Patienten vor bzw. ohne Therapie des primären Tumors mit den Werten nach Behandlung verglichen (Tabelle 4). Bei Patienten, bei denen der Tumor lokal behandelt wurde, betrug der MIA-Wert nach Behandlung im Median 6,94 ng/ml (4,62-11,55 ng/ml), bei Patienten ohne bzw. vor einer Behandlung im Median 6,72 ng/ml (4,89-11,66 ng/ml). Der Unterschied zwischen behandelten und nicht behandelten Patienten war laut Mann-Whitney-Test statistisch nicht signifikant ($p > 0,6$).

4.2.2 MIA – Bestimmung bei Patienten mit Metastasen

Bei 20 der 305 Patienten war eine Metastasierung vorhanden. Davon wiesen 12 Patienten bereits bei der ersten MIA-Bestimmung Metastasen auf, während die übrigen acht sie innerhalb der Beobachtungszeit entwickelten. Der MIA-Wert bei den 20 Patienten mit Metastasen betrug nach der Entwicklung von Metastasen im Median 13,03 ng/ml (8,75-93,35 ng/ml). Die Differenz der MIA-Werte zwischen den Patienten mit und ohne Metastasen war dem Mann-Whitney-Test zufolge statistisch signifikant ($p < 0,001$).

Abbildung 8 zeigt in Form eines Boxplots die MIA-Werte bei Patienten mit und ohne Metastasen. In dieser Abbildung sind sowohl die relativ hohen MIA-Werte einzelner Patienten als auch die große Streuung in der Gruppe mit Metastasen zu sehen. Die Beobachtung von Ausreißern mit extrem hohen MIA-Werten zeigt auch die eklatante Abweichung zwischen Median (13,03 ng/ml) und Mittelwert (30,67 ng/ml) bei Patienten mit Metastasen.

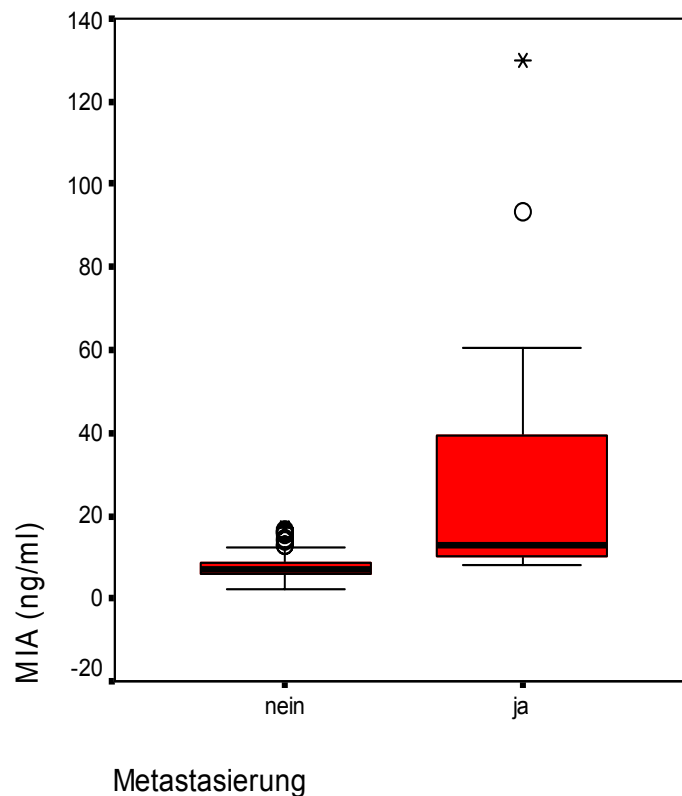


Abbildung 8: MIA-Werte von Patienten mit vs. ohne Metastasierung

Die Differenz der MIA-Werte zwischen den Patienten mit und ohne Metastasen war statistisch signifikant ($p < 0,001$).

Für acht Patienten, die im Untersuchungsverlauf eine Metastasierung entwickelten, liegen sowohl MIA-Werte vor als auch nach der Erscheinung von Metastasen vor (vgl. Tabelle 5). Bei diesen Patienten betrug der MIA-Wert vor Metastasierung im Median 5,61 ng/ml (min: 4,15; max: 15,2 ng/ml) und danach 12,28 ng/ml (8,75-60,7 ng/ml). Die MIA-Veränderung erreichte bis zu 729 % des ursprünglichen Wertes. Der Unterschied der MIA-Werte vor und nach Metastasen ist laut Mann-Whitney-Test statistisch signifikant ($p = 0,005$). Die dynami-

sche Veränderungen der MIA-Serumspiegeln sollten im Vordergrund stehen, da sie wichtiger und aussagekräftiger sind als einzelne, isolierte Werte.

Diese Tabelle zeigt auch welche Therapie diese Patienten bekommen haben sowie die maximale Prominenz des Tumors vor der Behandlung. Alle Tumore waren höher als 5 mm, was eine klinische prognostische Bedeutung für die Entwicklung von Metastasen hat.

Pat. Nr.	Max. Prom. vor Th. (mm)	lokale Therapie	MIA vor Met. (ng/ml)	MIA nach Met. (ng/ml)	Δ MIA (%)
1	11,0	γ -Knife	15,20	60,70	299
2	9,3	γ -Knife	4,76	39,52	729
3	5,2	Ru-106	6,80	29,17	329
4	7,4	γ -Knife	4,15	12,62	204
5	8,8	γ -Knife	6,65	11,95	80
6	8,4	γ -Knife	4,51	11,80	162
7	7,0	γ -Knife	4,90	8,98	83
8	10,5	γ -Knife	6,32	8,75	38

Tabelle 5: MIA-Wert-Änderung bei Patienten mit neu aufgetretenen Metastasen

Der Unterschied der MIA-Werte vor und nach Metastasen ist statistisch signifikant ($p = 0,005$).

Um einen Überblick über die Sensitivität und Spezifität des MIA-Tests zu geben, zeigt Abbildung 9 die ROC (Receiver-Operating-Characteristics) -Kurve für die MIA-Werte von den 20 Patienten mit und von den 285 ohne Metastasierung. In dieser Kurve werden für verschiedene MIA-Grenzwerte Sensitivität und Spezifität gegeneinander aufgetragen. Angegeben sind die ROC-Kurve (durchgehende Linie) und die Diagonale (unterbrochene Linie). Die Diagonale bedeutet eine Sensitivität sowie eine Spezifität von 50 %.

Der diagnostische Test weist Trennschärfe auf, wenn sich die Kurve signifikant von der Diagonalen (links unten – rechts oben) unterscheidet. Im Idealfall (100 %ige Trennschärfe) liegt die Kurve auf der linken bzw. oberen Begrenzungs-Seite des umschließenden Quadrates. Ein Maß für die Güte des Tests ist die Fläche unter der ROC-Kurve (AUC: Area Under Curve). Die Fläche kann Werte zwischen 0,5 und 1 annehmen, wobei ein höherer Wert eine höhere Güte anzeigt. Im vorliegenden Fall beträgt die AUC 0,937 (KI 95 % 0,897-0,977) und ist statistisch signifikant ($p < 0,001$).

Bezüglich der Größe der Studiengruppen wurde es von Metz bereits empfohlen, mindestens 50 Probanden pro Gruppe zu nehmen, sodass ein Proband nicht mehr als 2 % der Fällen entspricht [52]. Somit könnte die ROC-Kurve signifikant qualitative Informationen geben. Die in dieser Arbeit präsentierte Kurve ist deswegen nur eine vorläufige Kurve. In der Gruppe mit Metastasen wären zusätzlich 30 Patienten nötig, um eine definitive Aussage über den MIA-Wert als Screeninguntersuchung machen zu können.

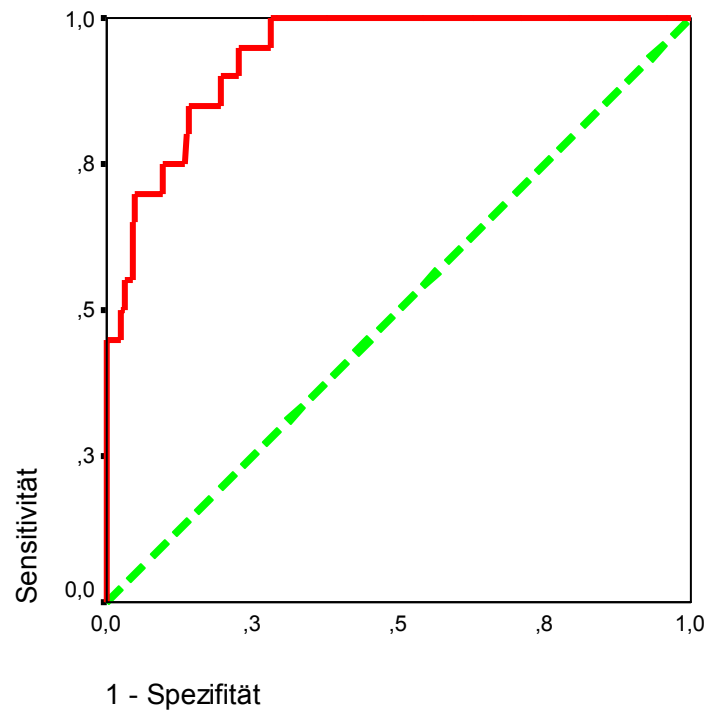


Abbildung 9: Vorläufige ROC Kurve

Anhand unserer ROC-Kurve hat sich die MIA-Bestimmung bei AH-MM ein passender Test zum Metastasenscreening gezeigt.

5 Diskussion

Das Melanom der Uvea ist bei Erwachsenen der häufigste primäre bösartige Tumor des Auges. Die Therapiemöglichkeiten für uveale Melanome sind vielfältig. Kleinere und mittelgroße Tumore werden meistens bulbuserhaltend therapiert [13, 58, 61, 72]. In den vergangenen Jahren wird allerdings vermehrt die Auffassung vertreten, dass auch die Gruppe von großen uvealen Melanomen einer Bestrahlungstherapie zugänglich ist. Diese wird im Gegensatz zur Behandlung mittelgroßer Melanome bei der vor allem radioaktiv beschichtete Applikatoren verwendet werden (Brachytherapie), mit einem externen Bestrahlungsinstrument durchgeführt (Teletherapie) [58]. Die Indikation zur Enukleation wird heutzutage immer seltener gestellt, d.h. uveale Melanome werden in der Regel behandelt, bevor ein Histopathologe Gewebe untersuchen und dem Tumor eine auf dieser Histologie basierende Dignität und Metastasierungswahrscheinlichkeit zuordnen kann [56, 57].

Im Gegensatz zu Irismelanomen, die selten metastasieren und sehr gut durch lokale Exzision behandelt werden können, hat ein Teil der Patienten mit einem malignen choroidalen Melanom ein hohes Metastasierungsrisiko, und zwar auch nach erfolgreicher Behandlung des Primärtumors [50, 54, 75, 76]. Die dafür verantwortlichen Prozesse sind noch unklar. Nach der Theorie von Lorenz Zimmerman können mechanische Manipulationen während der Erstbehandlung, z.B. bei einer Enukleation, zu einem Ausschwemmen von Tumormaterial führen [75, 76]. Dagegen besteht heute weitgehend Übereinstimmung, dass die Metastasierungsrate nicht so sehr von der Art der Behandlung beeinflusst wird, sondern dass bereits zum Zeitpunkt der Erstbehandlung Mikrometastasen bestehen, die durch humorale Faktoren vom Primärtumor unter Kontrolle gehalten werden [7, 35]. Durch Entfernung oder Verkleinerung des Primärtumors fallen die Kontrollfaktoren weg oder werden reduziert, und die Mikrometastasen wachsen zu klinisch erfassbaren Tumoren heran [60].

Die Prognose des Aderhautmelanoms korreliert mit der Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Metastasen. Die Überlebenschancen bei systemischer Erkrankung sind sehr gering. Das uveale Melanom metastasiert typischerweise in die Leber. Zum Metastasenscreening wird heutzutage von der COMS eine halbjährliche Bestimmung von Leberenzymen empfohlen. Oberbauchsonographie und Röntgen-Thorax sollten bei der Basisuntersuchung sowie bei Beschwerden durchgeführt werden. Weitere genauere (und auch teure) Bildmethoden wie z.B. die CT oder NMR sollen individuell je nach Größe des Primärtumors bei der Diagnosestellung eingesetzt werden [22].

Es stehen momentan leider wenige Therapie-Schemata, die das Leben von Patienten mit einem metastasierenden Aderhautmelanom verlängern könnten, zur Verfügung. Eine definitive Heilung ist zwar nicht möglich, allerdings könnte die Früherkennung von Metastasen Patienten identifizieren, die von neuen Therapieansätzen (systemischen oder adjuvanten Therapien) profitieren würden. Eine Früherkennung wäre auch sinnvoll, um dem Patienten und seiner Familie die weitere medizinische Betreuung und persönliche Planung zu erleichtern. Das Metastasenscreening bei Aderhautmelanomen besteht aus einer Kombination unterschiedlicher Untersuchungen mit den entsprechenden unterschiedlichen Sensitivitäten und Spezifitäten. Ein einziger Parameter, wie z.B. ein Tumormarker, der gleichzeitig spezifisch und sensitiv ist und die Kosten nicht so sehr erhöht, ist bisher für den klinischen Alltag nicht etabliert.

Tumormarker sind im Blut oder in anderen Körperflüssigkeiten nachweisbare Makromoleküle, die auf einen oder mehreren Tumoren hinweisen können, ohne dass dies beweisend für das Vorliegen einer malignen Erkrankung wäre. Unterschieden werden zwischen den zirkulierenden und damit serologisch nachweisbaren Tumormarkern im engeren Sinne und den morphologischen, immunhistochemischen Oberflächenmarkern sowie den Markern genetischer Anomalien. Zirkulierende Tumormarker sind Proteine, Peptide, Glykoproteine oder-peptide und Enzyme, die in oder auf Tumorzellen vorkommen oder deren Synthese in der Umgebung von

Tumorzellen induziert wird. Ihrer immunologischen Herkunft nach sind Tumormarker nicht als tumor- und auch selten organspezifisch, sondern besser als tumorassoziierte Substanzen zu bezeichnen. Tumormarker sind als Vorstufen normaler Antigene, Hormone, Enzyme und karzinofoetaler Antigene zu sehen [23, 33].

Der Nachweis zirkulierender Tumormarker wird heute hauptsächlich mit Hilfe sehr sensitiver Labortests wie z.B. Radioimmunassay, immunoradiometrischer Assay, Enzymimmunoassay und seit neuem mit Fluoreszenz- und Luminiszenzimmunoassay durchgeführt [23, 33]. Tumormarker sind wertvolle nichtinvasive Hilfsparameter im Gesamtkonzept der ärztlichen Betreuung von Tumorpatienten.

In den letzten Jahren wurde intensiv um das Protein „Melanoma Inhibitory Activity“ (MIA) geforscht, hauptsächlich im dermatologischen Bereich. Der Begriff „MIA“ entstand anlässlich des Versuches zelleigene Proteine zu isolieren, die Melanomwachstum inhibierende Aktivität („*melanoma inhibitory activity*“) in Zellkultur zeigen. In Melanozyten aus normaler Haut wird MIA nicht exprimiert, in gutartigen melanozytären Nävi findet sich eine schwache bis mittlere Expression. In der überwiegenden Zahl aller Melanome wird MIA exprimiert [74].

Das Protein MIA beeinflusst das Attachment der Melanomzellen. Die Bindung der Zellen an die Matrixproteine Fibronectin und Laminin wird von MIA spezifisch inhibiert. Eine mögliche Funktion wird daher in der Regulation des Herauslösens von Melanomzellen aus der extrazellulären Matrix vermutet, was eine wichtige Rolle im Metastasierungsprozess spielt [15, 67]. Die Arbeitsgruppe von Bosserhoff hat in mehreren Studien gezeigt, dass die Bestimmung der MIA-Werte im Serum von Melanompatienten (der Haut) ein sehr spezifischer Verlaufsparemeter ist. Dieser Marker lässt sowohl eine Aussage über den Metastasierungsgrad als auch das Ansprechen auf eine Therapie zu [14, 16].

Schaller *et al.* untersuchten immunohistochemisch Gewebeproben bei uvealen Melanomen und Metastasen und fanden eine signifikante MIA-Expression. Außerdem untersuchten *Schaller et al.* in einer Pilotstudie MIA-Serumspiegel von Patienten mit uvealem Melanom. Erste Ergebnisse deuteten darauf hin, dass die Bestimmung von MIA ein sehr spezifischer Marker zum Metastasenscreening sein könnte [67, 68]. Ziel dieser Arbeit war es, diese Annahme an einer größeren Anzahl von Patienten zu verifizieren.

Unsere Daten, die auf der Auswertung einer Gruppe von 305 Patienten mit einem uvealen Melanom basieren, deuten darauf hin, dass der MIA-Wert von lokalen Faktoren wie z.B. maximaler Tumorphöhe und Behandlung des primären Tumors nicht beeinflusst wird. Bei den 285 Patienten ohne systemische Metastasierung wurden MIA-Werte vor und nach lokaler Therapie des primären Tumors verglichen. Dabei wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen diesen Werten festgestellt. Somit scheint eine vorausgegangene Behandlung des primären Tumors keinen Einfluss auf den serologischen MIA-Wert zu haben.

Außerdem wurde kein signifikanter Unterschied der MIA-Werte zwischen kleinen (< 3 mm), mittleren (3-5 mm) und großen (> 5 mm) Tumoren in der Gruppe von Patienten ohne systemische Metastasierung festgestellt. Dies entspricht vorbeschriebenen Ergebnissen für das nicht-metastasierende maligne Melanom der Haut [14, 15]. Diese Daten lassen den Schluss zu, dass die MIA-Bestimmung im Serum von Patienten mit uvealem Melanom für die Diagnose oder das Staging des primären Tumors ungeeignet ist. Es wurde bereits in der Literatur beschrieben, dass Tumormarkerspiegel im Serum nicht immer mit der Tumormasse und – Ausbreitung korrelieren, sondern vielmehr individuellen Schwankungen unterliegen. Neben Tumormarkersynthese und- Expression wird der Serumspiegel auch von der Durchblutung des Tumors und von der Abbaurate des jeweiligen Markers beeinflusst. Daraus resultiert, dass Schwankungen des Serumspiegels auch bei Änderungen des Tumormarkerkatabolismus, wie beispielsweise

bei Leber- oder Niereninsuffizienz, ohne Bezug zur aktuellen Tumorgroße auftreten können [23, 33].

Wie bei anderen Tumormarkern in der Medizin ändert sich der MIA-Serumspiegel nicht, solange die Erkrankung lokalisiert bleibt und keine systemische Tumorstreuung vorliegt. Unsere Beobachtungen haben gezeigt, dass höhere MIA-Werte sehr gut mit der Entwicklung systemischer Metastasierung korrelieren. Die MIA-Serumspiegel der Patienten mit Metastasen waren statistisch signifikant höher als die der Patienten ohne Metastasierung. Interessanterweise war die Streuung der MIA-Werte bei Patienten mit Metastasierung extrem groß (min: 8,30; max: 130,0 ng/ml), wie in Abbildung 8 gezeigt. Im Gegensatz dazu war die Streuung bei den nichtmetastasierenden Patienten im Vergleich dazu gering (2,09-17,74 ng/ml). Zum jetzigen Zeitpunkt ist es uns noch unklar, weswegen die Streuung innerhalb der Gruppe mit Metastasierung so groß ist. Bei allen 20 metastasierenden Patienten war eine diffuse Metastasierung in der Leber vorhanden, so dass eine Korrelation zwischen MIA-Serumspiegel und Anzahl oder Größe der Metastasen nicht hergestellt werden konnte. Wahrscheinlich weisen die MIA-Serumwerte auf eine unterschiedlich ausgeprägte Expression von MIA in der Metastase hin. Zudem wäre eine histologische Studie zur Korrelation zwischen MIA-Serumwert und immunhistochemischer Expression sinnvoll.

Insgesamt wiesen 293 Patienten zu Studienbeginn keine Metastasierung auf. Davon wurden 164 Patienten im Verlauf beobachtet und die MIA-Werte mehrmals bestimmt. Acht Patienten entwickelten eine Metastasierung im Beobachtungszeitraum. Bei diesen Patienten wurde ein signifikanter Anstieg des MIA-Werts festgestellt: von 5,61 ng/ml im Median vor der Entwicklung von Metastasen (4,15-15,2 ng/ml) auf 12,28 ng/ml (8,75-60,7 ng/ml) danach. Tabelle 5 zeigt unter anderen die MIA-Wert-Änderungen in % bei diesen acht Patienten: im Durchschnitt hat sich der MIA-Wert um 240% nach dem Auftreten von Metastasen erhöht. Bei den verbleibenden 156 Patienten, die im Verlauf keine Metastasierung entwickelten, blieb wäh-

rend der ganzen Beobachtungszeit der MIA-Wert im Normbereich stabil. Für die Interpretation von MIA - wie für jeden anderen Tumormarker auch – gilt, dass nicht der Einzelwert, sondern stets die Kinetik des Tumormarkers erfasst werden sollte. Es gilt festzuhalten, dass das Protein MIA kein prädiktiver Marker und zur Einschätzung des Metastasenrisikos ungeeignet ist. Das bedeutet, dass bei einem normalen MIA-Wert keine Aussage über eine eventuelle zukünftige Metastasenentwicklung möglich ist. Der MIA-Serumspiegel ändert sich erst beim Vorhandensein einer Metastasierung und könnte damit bei der Früherkennung und beim Screening nützlich sein.

Aus unserer vorläufigen ROC-Kurve geht hervor, dass die Bestimmung von MIA im Serum von Patienten mit einem Aderhautmelanom ein sensibler und spezifischer diagnostischer Test zum Metastasenscreening ist. Die Fläche unter der ROC-Kurve (AUC: Area Under Curve) beträgt 0,937 (KI 95 % 0,897-0,977) und ist statistisch signifikant ($p < 0,001$). Weiterhin lassen sich unterschiedliche MIA-Grenzwerte mit entsprechenden Sensitivitäten und Spezifitäten feststellen. In der Literatur wurde der obere MIA-Normalwert bei 6,5 ng/ml definiert [15]. Anhand unserer ROC-Kurve könnte ein etwas höherer Normalwert bei Aderhautmelanomen definiert werden, z.B. 8,98 ng/ml; somit würde eine Sensitivität von 90 % sowie eine Spezifität von 80,6 % erreicht. Dennoch ist die Rekrutierung von weiteren metastasierenden Patienten in unsere Studiengruppe notwendig, damit die ROC-Kurve aussagekräftiger wird.

In Zukunft könnte die MIA-Bestimmung im klinischen Alltag einen Beitrag zur Detektion von Metastasen im Rahmen der Tumornachsorge leisten. Der wesentliche Vorteil der MIA-Messung ist, dass es sich um einen kostengünstigen ELISA-Test handelt. Somit würde eine regelmäßige MIA-Bestimmung die Kosten der internistischen Durchuntersuchung nicht steigern, sondern könnte vielmehr einen wesentlichen Beitrag zur Kostensenkung bei der Betreuung von Tumorkranken leisten. Natürlich wird ein Tumormarker nie ein bildgebendes Verfahren ersetzen können, allerdings könnte die MIA-Bestimmung die Indikationsstellung zu

genaueren und teureren Bildmethoden wie z.B. CT oder NMR optimieren und ergänzen. Nach dem Screeningprotokoll der COMS sollten bildgebende Verfahren bei Risikopatienten (z.B. bei großen Tumoren) indiziert werden. Unter Berücksichtigung der MIA-Werte könnten Patienten besser eingestuft und somit bildgebende Verfahren gezielter eingesetzt werden. Ferner könnte die Zahl computertomographischer Untersuchungen und die damit verbundene Strahlenbelastung für den einzelnen Patienten reduziert werden.

Bei einer Reduktion der Kosten pro Screeninguntersuchung, könnten die Untersuchungen häufiger durchgeführt und statt halbjährlich sogar alle drei Monate vorgenommen werden. Somit erhöhen sich die Chancen einer Früherkennung von Metastasen, und die Patienten, die von einer adjuvanten Therapie profitieren würden, könnten früher identifiziert und behandelt werden. Es ist anzumerken, dass sich die Rekrutierung von Patienten mit Metastasen und die MIA-Bestimmung nach der Entwicklung einer Metastasierung bei bereits rekrutierten Patienten als schwierig erwies, weil sich die Patienten seltener zur augenärztlichen Kontrolluntersuchung in der Augenklinik vorstellten. Diese Patienten wurden vielmehr in peripheren Krankenhäusern näher am Wohnort von Onkologen bzw. Dermatologen betreut. Aufgrund der niedrigen Überlebensrate dieser Patienten war eine Verlaufskontrolle unter Chemotherapie in der Augenklinik schwierig durchzuführen. Eine Aussage über die Möglichkeit eines Therapiemonitoring mit MIA ist anhand der jetzigen Datenlage nicht möglich. Die Kontrolle bereits rekrutierter Patienten und die Rekrutierung neuer Patienten läuft in der Augenklinik der Ludwig-Maximilian-Universität, München im Rahmen einer prospektiven Längsschnittstudie weiter. Ziel ist es, die hier präsentierten Ergebnisse anhand größerer Fallzahlen zu bestätigen und die MIA-Bestimmung als Screeningparameter in der klinischen Routine zu etablieren. Eine serologische Überwachung nach Chemotherapie wird weiterhin angestrebt. Auch erwarten wir, dass MIA eine wichtige Rolle bei klinischen Studien zur Entwicklung neuer Therapiemodalitäten für das metastasierende Aderhautmelanom spielen wird.

6 Zusammenfassung

Hintergrund: Bei Metastasierung eines Aderhautmelanoms ist die Leber in 90 % der Fälle betroffen. Zum Metastasenscreening werden im Wesentlichen derzeit Oberbauchsonographie sowie Bestimmung der Leberenzyme durchgeführt. Allerdings sind diese Untersuchungen relativ unspezifisch. In einer Pilotstudie wurde bereits das Protein MIA als möglicher serologischer Tumormarker für das metastasierende Aderhautmelanom untersucht [68].

Patienten und Methode: In einer prospektiven Studie wurden MIA-Serumspiegel von 305 Patienten mit uvealem Melanom untersucht. Insgesamt wiesen 20 (6,6 %) der Patienten eine systemische Metastasierung auf. Acht davon entwickelten diese erst innerhalb des Beobachtungszeitraumes.

Ergebnisse: Bei 285 Patienten mit uvealem Melanom, aber ohne Metastasierung, betrug der MIA-Serumspiegel im Median 6,72 ng/ml. Bei 20 Patienten mit Metastasen betrug der MIA-Serumspiegel im Median 13,03 ng/ml. Die Differenz zwischen beiden Gruppen war statistisch hoch signifikant ($p < 0,001$). Bei den acht Patienten, die im Verlauf eine Metastasierung entwickelt haben, stieg der MIA-Serumspiegel im Median von 5,61 ng/ml vor auf 12,28 ng/ml nach Entwicklung von Metastasen an. Die Differenz der Werte zwischen den beiden Zeitpunkten war statistisch hoch signifikant ($p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Patienten mit Metastasen wiesen signifikant höhere MIA-Serumwerte auf und MIA-Serumspiegel stiegen nach Entwicklung einer Metastasen an. Daher ist das tumorassoziierte Protein „Melanoma Inhibitory Activity“ (MIA), das als ELISA-Test kommerziell erhältlich ist, für das Tumor- und Metastasenmonitoring des uvealen Melanoms als sensitiver und spezifischer Tumormarker geeignet

7 Literaturnachweis

1. **Agarwala S, Glaspy J, O'Day SJ et al.** Results from a randomised phase III study comparing combined treatment with histamine dihydrochloride plus interleukine-2 versus interleukin-2 alone in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 2002; 20: 125-133.
2. **Albert DM, Niffenegger AS, Willson JK.** Treatment of metastatic uveal melanoma: Review and recommendations. *Surv Ophthalmol.* 1992; 36: 429-438.
3. **Anastassiou G, Tschentscher F, Zeschnigk M.** Prognostisch relevante Marker bei malignem Melanom der Uvea. *Ophthalmologe.* 2002; 99: 327-332.
4. **Augsburger J et al.** Fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of intraocular cancer. Cytologic-histologic correlations. *Ophthalmology.* 1985; 92: 39-49.
5. **Augsburger J et al.** Long-term survival in choroidal and ciliary body melanoma after enucleation versus plaque radiation therapie. *Ophthalmology.* 1998; 105: 1670-1678.
6. **Bechrakis NE et al.** Jod-125-Brachytherapie und transsklerale Tumorresektion bei großen uvealen Melanomen. *Ophthalmologe.* 2001; 98: 736-742.
7. **Bechrakis NE et al.** Aderhautmelanom – Adjuvante Therapie bei Hochrisikopatienten und neue Therapieansätze im metastasierten Stadium. *Ophthalmologe.* 2002; 99: 333-337.
8. **Becker JC, Lieb W, Bröcker EB.** Therapie des Uveamelanoms: Fotemustin, Interferon- α und Interleukin-2. *Z Hautkr.* 1999; 74: 593.

9. **Becker JC et al.** Treatment of disseminated ocular melanoma with sequential fote-mustin, interferon α and interleukin 2. *Br J of Cancer*. 2002; 87: 840-845.
10. **Blesch A et al.** Cloning of a novel Malignant Melanoma-derived Growth-Regulatory Protein, MIA. *Cancer Res*. 1994; 54: 5695-5701.
11. **Blom DJ et al.** Human leukocyte antigen class I expression. Marker of poor prognosis in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997; 38: 1865-1872.
12. **Boissy RE.** The melanocyte: Its structure, function, and subpopulations in skin, eyes, and hair. *Dermatol Clin*. 1988; 6: 161-173.
13. **Bornfeld N.** Diagnose und Therapie maligner Melanome der Uvea (Aderhaut und Ziliarkörper). *Ophthalmologe*. 1992; 89: 61-78.
14. **Bosserhoff AK et al.** Melanoma-inhibiting Activity, a novel Serum Marker for Progression of Malignant Melanoma. *Cancer Research*. 1997; 57: 3149-3153.
15. **Bosserhoff AK et al.** MIA („melanoma inhibitory activity“): Biologische Funktionen und klinische Relevanz beim malignen Melanom. *Hautarzt*. 1998; 49: 762-769.
16. **Bosserhoff AK et al.** In Situ Expression Patterns of Melanoma-Inhibiting activity (MIA) in: Melanomas and Breast Cancers. *J Pathol*. 1999; 187: 446-454.
17. **Char et al.** Uveal melanoma cycling, vascular patterns and prognosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994; 35: 17-21.
18. **Char DH, Kroll S, Phillips TL.** Uveal Melanoma: growth rate and prognosis. *Arch Ophthalmol*. 1997; 115: 1014-1018.

19. **Coleman K et al.** Prognostic value of morphometric features and the Callender classification in uveal melanomas. *Ophthalmology*. 1996; 103: 1634-1641.
20. **Collaborative ocular melanoma study group.** Factors predictive of growth and treatment of small choroidal melanoma. *Arch Ophthalmol*. 1997; 115: 1537-1544.
21. **Collaborative ocular melanoma study group.** The collaborative ocular melanoma study (COMS) randomized trial of pre-enucleation radiation of large choroidal melanoma II: initial mortality findings. COMS report no. 10. *Am J Ophthalmol*. 1998; 125: 779-796.
22. **Collaborative ocular melanoma study group.** Screening for metastasis from choroidal melanoma: The collaborative ocular melanoma study group Report 23. *J Clin Oncology*. 2004; 22(12): 2438-2444.
23. **Dahlmann N.** Alte und neue Tumormarker. *Dtsch med Wschr*. 1989; 114: 1848-1853.
24. **Damato B et al.** Endoresection of choroidal melanoma. *Br J Ophthalmol*. 1998; 82: 213-218.
25. **Deichmann M et al.** S100-Beta, Melanoma-Inhibiting Activity and Lactate Dehydrogenase Discriminate Progressive from Nonprogressive American Joint Committee on Cancer Stage IV Melanoma. *J Clin Oncol*. 1999; 17: 1891-1896.
26. **Dithmar S et al.** Metastasierendes uveales Melanom: Tierexperimentelle Entwicklung neoadjuvanter Therapien. *Ophthalmologe*. 2001; 98: 761-765.
27. **Djukanovic D et al.** Comparison of S100 Protein and MIA Protein as Serum Marker for Malignant Melanoma. *Anticancer Research*. 2000; 20: 2203-2208.

28. **Egan KM *et al.*** Epidemiological aspects of uveal melanoma. *Surv Ophthalmol.* 1988; 32: 239-251.
29. **Egerer G *et al.*** Pilot study of hepatic intraarterial fotemustine chemotherapy for liver metastases from uveal melanoma: a single-center experience with seven patients. *J Clin Oncol.* 2001; 6 (1): 25-28.
30. **Egger E *et al.*** Results of Proton Radiotherapy for uveal melanomas. *Front Radiat Ther Oncol.* 1997; 30: 111-122.
31. **Ericsson *et al.*** Association of HLA class I and class II antigen expression and mortality in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001; 42: 2153-2156.
32. **Eskelin S *et al.*** Screening for Metastatic Malignant Melanoma of the Uvea Revisited. *Cancer.* 1999; 85: 1151-1159.
33. **Fiebiger W, Wiltschke C.** Tumormarker. *Acta Med Austriaca.* 2001; 28 (2): 33-37.
34. **Folberg R *et al.*** The microcirculation of choroidal and ciliary body melanomas. *Eye.* 1997; 11: 227-238.
35. **Folkman J.** Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med.* 1995; 333: 1757-1763.
36. **Goto H *et al.*** 5-S-Cysteinyldopa as a diagnostic tumor marker for uveal melanoma. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 1998; 102: 319-326.
37. **Gragoudas ES *et al.*** Survival of Patients with Metastases from Uveal Melanoma. *Ophthalmology.* 1991; 98: 383-390.

38. **Guthoff R et al.** Das Regressionsverhalten des Aderhautmelanoms nach Strahlentherapie – ein neuer prognostischer Parameter? *Klin Mbl Augenheilk.* 1990; 196: 6-10.
39. **Hicks C, Foss AJE, Hungerford JL.** Predictive power of screening tests for metastasis in uveal melanoma. *Eye.* 1998; 12: 945-948.
40. **Jäckel A et al.** S100 β -Protein im Serum als Tumormarker beim malignen Melanom: aktueller Kenntnisstand und klinische Erfahrung. *Hautarzt.* 1999; 50: 250-256.
41. **Jäckel A et al.** Therapie des metastasierten malignen Uveamelanoms. *Hautarzt.* 2001; 52: 98-103.
42. **Kaiserman I, Amer R, Pe'er J.** Liver function tests in metastatic uveal melanoma. *Am J Ophthalmol.* 2004; 137 (2): 236-243.
43. **Kan-Mitchell J et al.** Differential S100 β Expression in Choroidal and Skin Melanomas: Quantitation by the Polymerase Chain Reaction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993; 34 (12): 3366-3375.
44. **Kanski JJ.** Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York. 1996; 2. Auflage, 204-208.
45. **Kertes PJ, Johnson JC, Peyman GA.** Internal resection of posterior uveal melanomas. *Br J Ophthalmol.* 1998; 82: 1147-1153.
46. **Kuan AK, Jackson FI, Hanson J.** Multimodality detection of metastatic melanoma. *J R Soc Med.* 1988; 81: 579-582.
47. **Leyvraz S et al.** Treatment of ocular melanoma metastatic to the liver by hepatic arterial chemotherapie. *J Clin Oncol.* 1997; 15: 2589-2595.

48. **Lommatzsch PK, Werschnik C, Schuster E.** Long-term follow-up of Ru-106/Rh-106 brachytherapy for posterior uveal melanoma. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2000; 238: 129-137.
49. **Makitie T, Summanen P, Kivela T.** Fibrovascular loops and networks in choroidal and ciliary body melanomas. *Ophthalmic Res.* 1997; 29: 136.
50. **McLean I, Forster W, Zimmerman L.** Choroidal melanoma. *Arch Ophthalmol.* 1980; 98: 1298-1303.
51. **Meral *et al.*** Prognostic significance of melanoma inhibiting activity levels in malignant melanoma. *Melanoma Research.* 2001; 11: 627-632.
52. **Metz CE.** Basic principles of ROC analysis. *Seminars in Nuclear Medicine.* 1978; 8: 283-298.
53. **Mooy CM, De Jong PTVM.** Prognostic Parameters in Uveal Melanoma: A Review. *Survey of Ophthalmology.* 1996; 41 (3): 215-228.
54. **Mueller AJ.** Die in vivo Darstellung prognostisch signifikanter Mikrovaskularisationsmuster in humanen choroidalen Melanomen. Habilitationsschrift, LMU München. 1998.
55. **Mueller AJ *et al.*** Imaging the microcirculation of untreated and treated human choroidal melanomas. *Ophthalmology.* 2001; 23: 385-393.
56. **Mueller AJ *et al.*** Complex Microcirculation Patterns Detected by Confocal Indocyanine Green Angiography Predict Time to Growth of Small Choroidal Melanocytic Tumors. *Ophthalmology.* 2002; 109 (12): 2207-2214.

57. **Mueller AJ et al.** Die Muenchen/San Diego/Iowa City Collaboration (MuSIC)-Report-I: Design, Charakterisierung des Kollektives und erste Ergebnisse. *Ophthalmologe*. 2002; 99: 193-199.
58. **Mueller AJ et al.** Stereotaktische Konvergenzbestrahlung großer uvealer Melanome mit dem Gamma-Knife: Vorläufige Ergebnisse bei 100 Patienten. *Ophthalmologe*. 2003; 100: 122-128.
59. **Naus NC et al.** Detection of Genetic Prognostic Markers in Uveal Melanoma: Biopsies Using Fluorescence *in Situ* Hybridization. *Clin Cancer Research*. 2002; 8: 534-539.
60. **Niederhorn J.** Immune privilege and immune regulation in the eye. *Adv Immunol*. 1990; 48: 191-226.
61. **Oosterhuis JA et al.** Transpupillary thermotherapy in choroidal melanomas. *Arch Ophthalmol*. 1995; 113: 315-321.
62. **Pach JM, Robertson DM.** Metastasis from untreated uveal melanomas. *Arch Ophthalmol*. 1986; 104: 1624-1625.
63. **Rennie IG.** Uveal melanoma: Tumor phenotype and metastatic potential. *Royal College of Ophthalmologists*. 1997; 11: 239-242.
64. **Rummelt V et al.** Relation between the microcirculation architecture and the aggressive behaviour of ciliary body melanomas. *Ophthalmology*. 1995; 102: 844-851.
65. **Sagerman RH, Alberti WE.** Radiotherapy of Intraocular and Orbital Tumors. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 2003; 2nd Revised Edition.
66. **Sakamoto T et al.** Histologic findings and prognosis of uveal malignant melanoma in japanese patients. *Am J Ophthalmol*. 1996; 121: 276-283.

67. **Schaller UC *et al.*** Melanoma inhibitory activity (MIA): Evaluierung eines neuen tumorassozierten Antigens als Serummarker für uveale Melanome. *Ophthalmologe*. 2000; 97: 429-432.
68. **Schaller UC *et al.*** Melanoma inhibitory activity: a novel serum marker for uveal melanoma. *Melanoma Research*. 2002; 12: 593-599.
69. **Schaller UC *et al.*** Zusammenhang von ICG-angiographisch nachgewiesenen „Networks“ uvealer Melanome und Tumorrückbildungsgeschwindigkeit nach Brachytherapie. *Ophthalmologe*. 2002; 99: 545-548.
70. **Schranz R *et al.*** Beeinflussen andere Faktoren als der histologische Typ die Überlebensdauer nach Enukleation wegen eines malignen Aderhautmelanoms? *Spektrum Augenheilkd.* 1997; 11 (2): 39-44.
71. **Schüler AO, Bornfeld N.** Aktuelle Therapieaspekte intraokularer Tumoren. *Ophthalmologe*. 2000; 97: 207-222.
72. **Shields JA *et al.*** Comparison of xenon arc and argon laser photocoagulation in the treatment of choroidal melanomas. *Am J Ophthalmol.* 1990; 109: 647-655.
73. **Terheyden P *et al.*** Immunochemotherapie des metastasierenden Uveamelanoms mit Interferon- α 2b, Interleukin-2 und Fotemustin: Kasuistiken und Literaturübersicht. *Hautarzt*. 1998; 49: 770-773.
74. **Waldmann V, Deichmann M, Jäckel A.** Disseminierte Melanomzellen in Blut und Knochenmark: Bedeutung und Nachweis durch potenzielle Tumormarker. *Hautarzt*. 2001; 52: 298-303.

75. **Zimmerman L, McLean I.** An evaluation of enucleation in the management of uveal melanomas. *Am J Ophthalmol.* 1979; 87: 741-760.
76. **Zimmerman L, McLean I, Foster W.** Statistical analysis of follow-up data concerning uveal melanomas, and the influence of enucleation. *Ophthalmology.* 1980; 87: 557-564.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Fundusfoto eines amelanotischen Aderhautmelanoms (aus: Fotoarchiv der Augenklinik, LMU)	2
Abbildung 2: Histologie des Aderhautmelanoms (aus: Labor für Histologie der Augenklinik, LMU).....	6
Abbildung 3: Mikrozirkulationsmuster in der Indozyanin Grün Angiographie (mit freundlicher Genehmigung: Prof. Dr. med. A. J. Mueller)	15
Abbildung 4: Schema der MIA-Funktion (aus: Bosserhoff <i>et al</i> , 1998).....	24
Abbildung 5: MIA-Werte bei Patienten mit Melanom der Haut in verschiedenen Stadien (aus: Bosserhoff <i>et al</i> , 1998)	25
Abbildung 6: Altersverteilung in der Studiengruppe	34
Abbildung 7: Anzahl der untersuchten Blutproben pro Patient	35
Abbildung 8: MIA-Werte von Patienten mit vs. ohne Metastasierung.....	40
Abbildung 9: Vorläufige ROC Kurve	43

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Heutiger Einsatz von Tumormarkern in der Medizin	20
Tabelle 2: Charakteristiken der immunhistochemisch gefärbten primären AH-MM (aus: Schaller <i>et al</i> , 2002)	27
Tabelle 3: Therapiehäufigkeit und Behandlungsarten der Patienten ohne Metastasen.....	37
Tabelle 4: MIA-Vergleich bezügl. der maximalen Prominenz und lokaler Behandlung in der Gruppe ohne Metastasen	38
Tabelle 5: MIA-Wert-Änderung bei Patienten mit neu aufgetretenen Metastasen.....	41

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Ingrid Wanke Reiniger
Geburtsdatum: 20. Dezember 1977
Geburtsort: Rio de Janeiro, Brasilien
Ehestand: ledig
Eltern: Sérgio Roberto Serrão Reiniger
Dorotéa Schaffer Wanke

Schule

1982 – 1995 **Escola Corcovado (Grundschule und Gymnasium), Rio de Janeiro**
2º grau completo (brasilianische allgemeine Hochschulreife) und Erwerb des Deutschen Sprachdiploms (KMK 1 und 2)

1995 Teilnahme am *Vestibular* (Aufnahmeprüfung) zum Medizinstudium an verschiedenen Universitäten im Bundesstaat Rio de Janeiro

Studium

1996 – 2002 **Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro**

- Studium der Humanmedizin
- vorklinischer und klinischer Abschnitt (von März 1996 bis Juni 2000)
- sechsmonatige Unterbrechung des Studiums zur Absolvierung verschiedener Praktika in Deutschland (von Juli 2000 bis Februar 2001)
- Praktisches Jahr (von März 2001 bis Mai 2002):
 - Innere Medizin, allgemeine Chirurgie, Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Kinderheilkunde (Universitätskrankenhaus Pedro Ernesto, Rio de Janeiro)
 - Augenheilkunde (an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Münster)

Beruf

2003 - 2004 **Ludwig Maximilian-Universität, München**

- Ärztin im Praktikum (ÄiP) an der Augenklinik

seit Jul. 2004 **Ludwig Maximilian-Universität, München**

- Assistenzärztin an der Augenklinik

11 Danksagung

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. A. J. Mueller für die Überlassung des Themas. Mein besonderer Dank gilt meinem engagierten Betreuer Dr. U. C. Schaller, der stets für Fragen offen war und bei Problemen immer zur Seite stand. Ferner möchte ich mich bei Prof. Dr. A. Kampik für die Möglichkeit der Ausbildung in der Augenklinik der LMU bedanken.

Ich danke weiterhin dem Leiter des Allergie Labors der Dermatologie der Technischen Universität München, Herrn Prof. Dr. R. Hein für die Unterstützung bei der MIA-Bestimmung im Serum von unseren Patienten. Ebenso danke ich herzlich Herrn Dr. M. Schaumberger für seine Hilfe in EDV-Fragen sowie für sein Engagement in vielen Diskussionen über Statistik und Inhalt. Für Ihre Unterstützung bedanke ich mich bei Carlo Ingrosso und Harald Kröhn.

Mein privater Dank gilt meinen Freunden Georg Rindermann, Jutta Reinhardt, Julian Bayerlein und Christos Haritoglou. Zuletzt danke ich meinen Eltern und Großeltern für die liebevolle Unterstützung meines Studiums.